

Wirkungen des Antiepilepticus Valproat
auf CA1-Pyramidenzellen
in isolierten Dünnschnitten
des Hippocampus der Ratte

von

Lothar Hoja
aus Nürnberg

*Diss.
Delangen
1985*

1986 # 37

Wirkungen des Antiepilepticums Valproat auf CA1-Pyramidenzellen in isolierten Dünnschnitten des Hippocampus der Ratte

**Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg**

**zur
Erlangung des Doktorgrades**

vorgelegt von

Lothar Hoja

aus Nürnberg

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaft-
lichen Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 1985

Vorsitzender der Promotionskommission:

Professor Dr. K. Brodersen

Erstberichterstatter: Professor Dr. G. Seitz

Zweitberichterstatter: Professor Dr. J. Vieth

INHALTSVERZEICHNIS

1.	ZUSAMMENFASSUNG	1
2.	EINLEITUNG	
2.1.	Epilepsie-Grundlagenforschung	3
2.2.	Valproat	6
3.	MATERIAL UND METHODEN	
3.1.	Nährlösung	13
3.2.	Präparation	14
3.3.	Hippocampus-Slice	17
3.4.	Ableitkammer	20
3.5.	Reizeinrichtung	22
3.6.	Ableitung	23
3.7.	Registrierung	24
4.	ERGEBNISSE	
4.1.	Barium als epileptogene Substanz	25
4.2.	Penicillin und Bicucullin	27
4.3.	Pentylentetrazol und Strychnin	32
4.4.	Calcium-freies Medium	34
4.5.	Summenpotentiale im Normalmedium	37
4.6.	Vergleiche von Zellpopulationen	39
4.7.	Einzelne Zellen in Normalmedium	42
5.	DISKUSSION	45
6.	LITERATUR	50



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. ZUSAMMENFASSUNG

Für die normale Gehirnfunktion ist eine genaue Balance zwischen Erregung und Hemmung von Nervenzellen unabdingbar. Bei der Epilepsie ist diese Balance zugunsten gesteigerter Erregung verschoben. Die neurophysiologischen Ursachen dafür, sowie die antagonisierende Wirkungsweise von Antiepileptica sind Gegenstand der Epilepsie-Grundlagenforschung. Diese ist am Menschen nur sehr begrenzt durchführbar, Aussagen über einzelne Nervenzellen sind nur im Tierversuch zu gewinnen. Ein besonders gut geeignetes Präparat sind Dünnschnitte des Hippocampus der Ratte (Abb.2).

Trotz umfangreicher therapeutischer Anwendung des Antiepilepticums Na-Valproat (Abb.1) ist der genaue Wirkungsmechanismus dieses Medikamentes noch ungeklärt. Aufgrund experimenteller Daten existieren 3 Hypothesen:

1 : Valproat wirkt über eine Erhöhung des Gehirnspiegels an hemmendem Neurotransmitter Gamma-amino-buttersäure (GABA), 2 : es verstärkt postsynaptische GABA-Effekte und 3 : Valproat hat direkte Einflüsse auf die Membran.

Es gibt jedoch auch Befunde, die den Hypothesen 1 und 2 widersprechen. Zu Hypothese 3 werden in verschiedenen Präparaten unterschiedliche Mechanismen gefunden.

In dieser Arbeit wurde Valproat dem Nährmedium beigemischt, welches die Dünnschnitte "in vitro" versorgte. Mit extrazellulären und intrazellulären Ableitungen wurde seine Wirkung auf die normale Aktivität von CA1-Pyramidenzellen getestet, sowie auf unterschiedliche Arten repetitiver Entladung, die durch Zugabe verschiedener epileptogener Substanzen erzeugt wurden.

Ein Vergleich der Mittelwerte von Ruhemembranpotential, Ruhemembranwiderstand und Aktionspotentialamplitude von Zellen in normalem und in Valproat-haltigem Medium zeigt keinen Effekt (Tabelle 1).

Valproat hat keinen Einfluß auf die Frequenz spontaner Aktionspotentialsalven unter Barium, es verkürzt jedoch ihre Dauer (Abb.5). In Calcium-freiem Medium und unter Penicillin blockiert Valproat spontane Aktivität (Abb.10 A).

Repetitive Entladungen nach antidromer Reizung in Calcium-freiem Medium werden durch Valproat nur wenig beeinflusst (Abb.10 B).

Bei konstanter orthodromer Reizung blockiert Valproat repetitive Entladungen, die durch Zugabe von Penicillin, Bicucullin, Pentylen-tetrazol oder Strychnin, oder in normalem Medium durch Doppelreiz-Facilitation hervorgerufen wurden. Diese Wirkung ist ungeachtet der unterschiedlichen epileptogenen Mechanismen relativ einheitlich (Abb.6,8,9).

Dabei besteht ein logarithmischer Zusammenhang zwischen der Valproat-Konzentration und der Zeit, die vergeht, bis ein jeweils definierter Effekt zu beobachten ist (Abb.7,11).

In normalem Medium verkleinert Valproat EPSPs und erhöht die Reizstärke, die nötig ist, um ein Aktionspotential auszulösen (Abb.13).

Die Ergebnisse sprechen - im Sinne von Hypothese 3 - für einen unspezifischen Membraneffekt von Valproat, der offenbar sowohl prä- als auch postsynaptisch wirksam ist, und der dem Effekt eines Lokalanästheticums gleicht.

2. EINLEITUNG

2.1. Epilepsie-Grundlagenforschung

Unser Gehirn ist der Sitz von Funktionssystemen, die unsere inneren physiologischen Abläufe koordinieren und uns passiven und aktiven Kontakt mit der Umwelt ermöglichen. Als maximale Aufnahmekapazität des Gehirns an Informationsfluß werden $10 \text{ hoch } 9 \text{ bit/sec}$ geschätzt. Bei der Verarbeitung dieser Information durch die bewußte Wahrnehmung beträgt der Informationsfluß jedoch unter $10 \text{ hoch } 2 \text{ bit/sec}$ (Vossius 1980). Das bedeutet, bis zu dieser Stufe muß eine starke Datenreduktion auftreten. Dies ist nur ein besonders anschauliches Beispiel dafür, daß zur Entstehung eines sinnvollen, spezifischen Erregungsmusters im Gehirn nicht nur Erregung von Nervenzellen stattfinden muß, sondern auch in großem Maße ein geordnetes Verhindern von Erregung, nämlich Hemmung. Erst die genaueste Balance von Erregung und Hemmung gewährleistet die "normale" Gehirnfunktion. Ändert sich durch irgendeine Ursache das Verhältnis von Erregung und Hemmung zugunsten der Erregung - sei es durch Erregungssteigerung oder Verminderung der Hemmung - so führt dies zwangsläufig zu pathologischen Reaktionen des Gehirns. Ein besonders kennzeichnendes Beispiel für eine solche anomale neuronale Erregungszunahme sind epileptische Anfälle.

Der Begriff "Epilepsie" kennzeichnet dabei keine einheitliche Krankheit, sondern eine Vielzahl von Erscheinungsformen. Bei der Ausbildung der klinisch und elektrophysiologisch verschiedenen Anfallsarten spielen das Ausgangsgebiet im Gehirn und sein Reifegrad eine wichtige Rolle. Man unterscheidet altersgebundene von altersunabhängigen Anfällen und bei diesen wiederum lokale (kleine) und generalisierte Anfälle. Während eines Anfalls können die

jeweils betroffenen Nervenzellverbände ihre eigentliche Aufgabe nicht mehr erfüllen, was sich in unterschiedlichen motorischen, sensorischen und sensomotorischen Störungen äußert. Deutliche Anzeichen z.B. eines generalisierten Anfalls sind Bewußtlosigkeit, das Aussetzen der Atemsteuerung und Muskelkrämpfe. Bei sog. psychomotorischen (kleinen) Anfällen kommt es dagegen 'nur' zu optischen oder akustischen Halluzinationen oder zu stereotypen motorischen Automatismen, etwa rhythmischen Mund- oder Handbewegungen (Zusammenfassung: Vieth 1979).

Wie es nun bei der Entstehung eines Anfalls zur Verminderung der Hemmung oder zur Steigerung der Erregung kommt, ist trotz umfangreicher Forschung auf dem Gebiet der Epilepsie noch weitgehend ungeklärt (Übersicht: Klee et al. 1982). Auch das Wissen über den Wirkungsmechanismus antiepileptischer Medikamente ist noch sehr lückenhaft (Zusammenfassung: Löscher 1981).

Denn bei der einzigen am Menschen anwendbaren Methode der Epilepsie-Grundlagenforschung, der Elektroenzephalographie (EEG), werden Potentialdifferenzen mit relativ großflächigen Metallelektroden auf der Kopfhaut gemessen. Diese Methode kann also keine Informationen über die Aktivitäten einzelner Nervenzellen und über die Wirkung von Medikamenten darauf liefern. Die Forschung ist daher auf Modelle angewiesen, in denen epileptiforme Aktivität von Nervenzellen so gut wie möglich simuliert wird (Voskuyl 1978).

Bereits 1870 lösten Fritsch und Hitzig durch elektrische Reizung der Hirnrinde beim Hund epileptische Anfälle aus. Bei Versuchen an Ratten oder Mäusen werden anomale Erregungssteigerung vor allem durch Verabreichung von Elektroschocks oder sogenannten epileptogenen Substanzen erzeugt. Die chemischen Epilepsie-Modelle haben dabei den Vorteil, daß sie gut reproduzierbar sind und stabile

Anfallsmuster liefern.

Bei deren Anwendung sind 'in vitro' Methoden besonders geeignet, weil dabei die Blut-Hirnschranke des lebenden Tieres mit ihrer selektiven Durchlässigkeit entfällt (Mosfeld Laursen 1984). Die Zusammensetzung der Extrazellulärflüssigkeit kann problemlos verändert werden und auf diese Weise ist es möglich, die Wirkung verschiedener Substanzen direkt zu testen. Dabei ist jede Wechselwirkung mit einem Anästheticum, die beim lebenden Versuchstier die Deutung der Ergebnisse erschweren kann, ausgeschlossen. Bei der sogenannten Slice-Technik, einer 'in vitro' Methode, die viel zur Analyse epileptiformer Aktivität beigetragen hat (Mosfeld Laurssen 1984, Wong et al. 1984) wird aus isolierten Dünnschnitten von Gehirngewebe elektrophysiologisch abgeleitet. Slices des Hippocampus sind dabei besonders geeignet, weil sie einerseits klar überschaubar gegliedert sind (siehe Abschn. 3.3.), andererseits aber komplex genug, um synchronisierte epileptiforme Aktivität zu entwickeln (Wong et al. 84).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, unter Nutzung der Vorteile der Slice-Technik aus dem Hippocampus der Ratte extra- und intrazellulär abzuleiten. Es sollte untersucht werden, ob und welche elektrophysiologisch meßbaren Einflüsse das Antiepilepticum Valproat auf die normale Aktivität von CA1-Pyramidenzellen hat. Entsprechend der Erwartungen an ein Antiepilepticum wurde die Wirkung von Valproat außerdem auf verschiedene Arten epileptiformer Aktivität dieser Zellen getestet, welche durch unterschiedliche erregungssteigernde Substanzen hervorgerufen wurde.

2.2. Valproat

Allgemeines

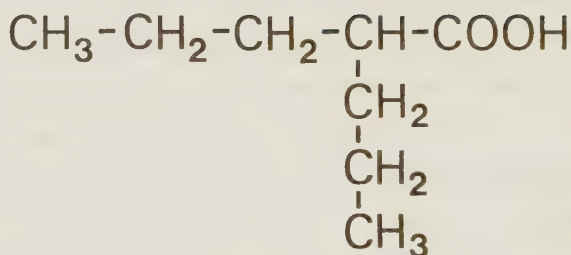


Abb.1

Strukturformel der Valproinsäure

Valproinsäure ist der Trivialname von 2-Propyl-valeriansäure, sie wird vom englischen Sprachgebrauch her auch Di-n-propylelessigsäure genannt. Es handelt sich um eine klare Flüssigkeit.

Das als Antiepilepticum verwendete Natriumsalz der Valproinsäure, in der Literatur und im folgenden als Valproat bezeichnet, ist ein weißes, kristallförmiges, geruchloses Pulver mit einem MG von 166. Es ist sehr gut in Wasser löslich und in dieser Form - neben der Tablettenform - auch im Handel.

Valproat unterscheidet sich strukturell von allen anderen gebräuchlichen Antiepileptica dadurch, daß es kein Stickstoffatom und kein Ringsystem enthält.

Bemerkenswert ist außerdem, daß Valproat gegen fast alle Anfallstypen gleichgut wirksam ist (Chapman et al. 1982).

Entdeckt wurde seine antiepileptische Wirkung durch Zufall, als man in der Firma Berthier, Grenoble 1962 bei pharmakologischen Tests von wasserunlöslichen Khellin-Derivaten die Valproinsäure als Lösungsmittel verwendete. Bei Kontrollen stellte sich heraus, daß auch dieses Lösungsmittel alleine anfallshemmend wirkte (Meunier et al. 1963, Kupferberg 1980). Ab 1964 wurden dann mit Natrium-Valproat klinische Tests durchgeführt (Chapman et al. 1982).

Trotz umfangreicher therapeutischer Anwendung ist der genaue Wirkungsmechanismus jedoch noch ungeklärt.

Valproat und der GABA-Spiegel im Gehirn

Erste biochemische Untersuchungen von Godin et al. (1969) und Simler et al. (1973) ergaben nach Verabreichung von Valproat eine Erhöhung des Spiegels von Gamma-amino-buttersäure (GABA) im Gehirn von Nagern. GABA gilt als der wichtigste hemmende Neurotransmitter und verminderte Hemmung wird als eine der Ursachen von Epilepsie angesehen (siehe 2.1.). Dementsprechend besagt die am häufigsten angeführte Hypothese zum Wirkungsmechanismus von Valproat, sein antiepileptischer Effekt beruhe auf dieser GABA-Zunahme (Johnston 1984), bedingt durch Einwirkungen auf bestimmte Enzyme des GABA-Stoffwechsels. Dabei wird eine erhöhte Aktivität der GABA-aufbauenden Glutaminsäure-Decarboxylase (GAD) ebenso diskutiert (Löscher und Frey 1977), wie eine Hemmung der GABA-abbauenden Enzyme GABA-a-ketoglutarat-aminotransferase (GABA-T) (Simler et al. 1973) und Succinat-semialdehyd-dehydrogenase (SSA-DH) (Harvey et al. 1975, Van der Laan et al. 1979). Bernasconi et al. (1984) jedoch kommen in ihren Untersuchungen zu dem Schluß, daß ein ge-

ringeren GABA-Verbrauch für die Erhöhung des GABA-Spiegels verantwortlich ist.

Bisher konnte aber nicht nachgewiesen werden, daß eine Erhöhung des GABA-Spiegels auch eine tatsächlich vermehrte präsynaptische Ausschüttung von GABA bedingt (Chapman et al. 1982). Abdul-Ghani et al. (1981) zeigten, daß Valproat keinen Effekt auf die Freisetzung von C14-GABA aus Neocortex-Synaptosomen der Ratte hat. Hackman et al. (1981) fanden sogar eine durch Valproat verminderte H3-GABA Ausschüttung in Slices des Frosch-Rückenmarks.

Es wurden außerdem eine Reihe von Befunden angeführt, die der oben genannten Hypothese widersprechen. Für eine antiepileptische Wirkung genügen weitaus geringere Valproat-Konzentrationen, als zu einer ausreichenden Beeinflussung der genannten Enzyme (Sawaya et al. 75) und damit zu einer deutlichen Erhöhung des GABA-Spiegels im Gehirn (Anlezark et al. 1976) nötig sind. Außerdem ist Valproat bei Elektroschock-Krämpfen schon wirksam, bevor eine signifikante GABA-Zunahme im Gehirn erfolgt (Kerwin et al. 1980, Kerwin und Taberner 1981). Andererseits vermag Valproat GABA-bedingte Hemmung noch zu verstärken, wenn der GABA-Gehalt des Gehirns nach Vorbehandlung mit Gabaculin bereits maximal ist (Kerwin und Olpe 1980). Emson (1976) wiederum zeigte, daß Valproat keinen hemmenden Effekt auf Kobalt-induzierte Anfälle hat, obwohl die GABA-Konzentration deutlich erhöht ist.

Es läßt sich also kein klarer Zusammenhang zwischen der Erhöhung des Gehirn-GABA-Spiegels durch Valproat und seiner antiepileptischen Wirkung feststellen (Chapman et al. 1982).

Valproat und postsynaptische GABA-Wirkung

Iontophoretisch appliziertes Valproat verstärkt in vielen Fällen die hemmende Wirkung von gleichzeitig iontophoretisch appliziertem GABA z.B. auf Säuger-Rückenmarkszellen in Gewebekultur (MacDonald und Bergey 1979), auf isolierte Zellen der Karpfen-Retina (Hayashi und Negishi 1979), sowie bei Ratten "in vivo" auf Zellen des Nucleus Deiter, der Substantia nigra (Kerwin und Olpe 1980) und des Neocortex (Schmutz et al. 1979, Baldino und Geller 1981).

Dies führte zu einer zweiten Hypothese, der Wirkungsmechanismus von Valproat beruhe auf einer Verstärkung postsynaptischer GABA-Wirkung (Johnston 1984).

Im Sinne dieser Hypothese konnten Hyden et al. (1984) zeigen, daß Valproat an Membranen von Deiterschen Nervenzellen die postsynaptische Aufnahme von GABA hemmte, was sie als mögliche Erklärung für eine erhöhte Wirkung von GABA deuteten. Befunde von Klee et al. (1985) an Neuronen des Froschrückenmarks stützten diese Theorie.

Wird Valproat bei Ratten jedoch nicht iontophoretisch, sondern intraperitoneal verabreicht, verstärkt es die hemmende Wirkung von iontophoretisch appliziertem GABA auf Neocortex Zellen nicht (Schmutz et al. 1979). Um auf Slices des Nucleus cuneatus einen, die Wirkung von iontophoretisch appliziertem GABA verstärkenden, Effekt zu erhalten, ist eine Valproat-Konzentration von über 3 mmol/Liter im Medium nötig (Harrison und Simmonds 1982).

Bei Untersuchungen, wie Valproat natürliche synaptische, also nicht künstliche iontophoretische, GABA-erge Übertragung beeinflusst, verstärkte iontophoretisch appliziertes Valproat die GABA-erge Hemmung in der Substantia nigra nur bei wenigen Zellen (Schmutz et al. 1979).

Intraperitoneal verabreichtes Valproat beeinflusst die

GABA-Transmission weder in der Substantia nigra, im Nucleus Deiter, noch im Neocortex (Schmutz et al. 1979, Kerwin und Olpe 1980).

Auch bei bestimmten Potentialen im Rückenmark der Ratte hat Valproat nicht den Effekt, den man von einer Substanz, die GABA-Wirkung verstärkt, erwarten würde (Hackman et al. 1981, Goto et al. 1983).

Zahlreiche elektrophysiologische Befunde sprechen also gegen diese zweite Hypothese, der Wirkungsmechanismus von Valproat beruhe auf verstärkter GABA-erger Hemmung. Zudem zeigen Bindungsstudien von Goto et al. (1983) keinerlei Anzeichen dafür, daß Valproat mit dem GABA-Rezeptor-Komplex interagiert.

Direkte Membraneffekte

Aufgrund der zahlreichen Ergebnisse, die gegen die sog. GABA-Hypothesen sprechen, wurde eine dritte Hypothese zur Wirkungsweise von Valproat entwickelt, welche direkte Effekte auf die Zellmembran von Neuronen annimmt.

In einigen Fällen erhöht iontophoretisch appliziertes Valproat die Spontanentladungsrate von Zellen z.B. bei der Ratte im Neocortex, in der Substantia nigra, im Nucleus Deiter (Kerwin und Olpe 1980) und im Hippocampus (Blume et al. 1979) sowie in der isolierten Retina des Karpfens (Hayashi und Negishi 1979). Bei anderen Untersuchungen im Neocortex der Ratte hat es keinen Einfluß auf die Spontanentladungen oder hemmt sie (Baldino und Geller 1981).

Bei intraperitonealer Gabe von Valproat wird die Spontanentladungsrate von Neuronen im Neocortex und in der Substantia nigra stets verringert (Kerwin und Olpe 1980).

Bei Versuchen mit Slices der präpiriformen Rinde des Meerschweinchens (Voskuyl et al. 1975) werden bei Zugabe von 6 - 24 mmol/Liter Valproat ins Medium die zu beobachtenden extrazellulären Summen-EPSPs und Summen-Aktionspotentiale kleiner, sowie durch Penicillin hervorgerufene Erregungsteigerungen werden blockiert. Bei Ratten in vivo blockiert intraperitoneal gegebenes Valproat epileptiforme Aktivität, die durch rhythmische elektrische Reizung hervorgerufen werden (Mares et al. 1984).

Andererseits beschrieb Rose (1979), daß Anfälle, die durch Bicucullin oder Picrotoxin ausgelöst werden, nach Valproat-Injektionen im EEG deutlich verstärkt werden.

Bei intrazellulären Ableitungen von CA3-Pyramidenzellen in Hippocampus-Slices der Ratte ist keine nennenswerte Beeinflussung der Ruhemembranleitfähigkeit und des Ruhemembranpotentials durch Zugabe von 10 mmol/Liter Valproat ins Medium feststellbar (Preisendörfer et al. 1984).

Alkadhi und Banks (1984) fanden bei einer neuromuskulären Endplatte des Frosches sowohl eine verringerte präsynaptische Transmitterausschüttung, als auch eine Abnahme des postsynaptischen Membranwiderstandes unter Valproat. Slater und Johnston (1978) beobachteten in isolierten Aplysia-Neuronen nach Zugabe von 5 - 30 mmol/Liter Valproat ins Nährmedium eine Hyperpolarisierung des Ruhemembranpotentials um ca. 15 mV, die durch eine Erhöhung der Kalium-Leitfähigkeit bedingt ist. Im Gegensatz dazu ist bei den Untersuchungen von Nosek (1981) an Riesenaxonen des Flußkrebse *Procambarus clarkii* als Valproat-Wirkung (4 mmol/Liter) die Kalium-Leitfähigkeit erniedrigt. Dadurch bedingt ist das Ruhemembranpotential in depolarisierender Richtung verschoben und die Aktionspotentiale haben eine längere Dauer. Valproat beeinflusst

hier nicht den aktiven Natrium-Kalium-Transport und die Natrium-Leitfähigkeit.

An der Riesenfaser von *Loligo pealei* ist jedoch bei intraaxonaler Applikation von 20 mmol/Liter Valproat die Natrium-Leitfähigkeit reduziert und der Effekt wird mit dem eines Lokalanästheticums verglichen (Fohlmeister et al. 1984). An dieser Stelle sei bemerkt, daß Mesdjan et al. (1983) bei Mäusen eine klare antinociceptive Wirkung von oral verabreichtem Valproat feststellen konnten.

Bei elektrophysiologischen Untersuchungen zu Hypothese 3 werden also bei verschiedenen Präparaten sehr unterschiedliche Mechanismen gefunden, so daß kein einheitlich spezifischer Membraneffekt als Valproat-Wirkung genannt werden kann.

Perlmann und Goldstein (1984) untersuchten mit fluoreszenzspektroskopischen Anisotropie-Messungen an synaptosomalen Zellmembranen die Wirkung von Valproat in Dosen, die Ratten vor Anfällen schützen. Sie stellten fest, daß Valproat eine unspezifische schädigende Wirkung auf Zellmembranen hat, die derjenigen von Äthanol und einigen Anästhetica sehr ähnlich ist.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Nährlösung

Die Nährlösung diente dazu, die Nervenzellen in den isolierten Dünnschnitten ständig mit einer Extrazellulärflüssigkeit zu umgeben, welche dem Liquor cerebrospinalis möglichst genau entspricht.

1 Liter Medium enthielt:

NaCl	124	mmol
KCl	3,3	mmol
NaH ₂ PO ₄	1,25	mmol
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2	mmol
CaCl ₂	2	mmol
NaHCO ₃	26	mmol
Glucose	10	mmol

Die Osmolalität dieses Mediums betrug ca. 305 mOsm/kgH₂O bei einer Meßungenauigkeit des Osmometers (Fa. Knauer, Berlin) von ± 8 mOsm.

Um die Neurone mit dem notwendigen Sauerstoff zu versorgen, wurde das Medium ständig mit Carbogen-Gas, einer Mischung aus 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid begast. Der CO₂-Anteil des Carbogens dient der Pufferung der Lösung auf einem pH-Wert von 7,3 - 7,4.

Die verschiedenen Veränderungen in der Zusammensetzung des Mediums, die vorgenommen wurden, um unterschiedliche epileptiforme Aktivität der Neurone zu erzeugen, sind unter ' 4. Ergebnisse ' beschrieben.

Valproat wurde gegebenenfalls diesem Medium beigemischt. Das erschien sinnvoller als eine lokale Applikation über eine Mikroglasskapillare, da so relativ genaue Aussagen über die jeweils benutzte Konzentration möglich sind. Außerdem wird die therapeu-

tische, orale Anwendung des Medikaments auf diese Weise besser nachgeahmt.

3.2. Präparation

Als Versuchstiere dienten Wistar-Ratten (*Rattus norvegicus albinus*) beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 100 g und 280 g. Sie wurden mit Äther betäubt und mit einer kleinen Guillotine (Scientific and Research Instruments, UK, Vertrieb: Fa.Heinz Albrecht Instrumente GmbH, München) vor den Ohren dekapitiert. Am abgetrennten Schädel wurde die Kopfhaut entlang der Mittellinie aufgeschnitten und auf beiden Seiten heruntergezogen. Dann wurde eine Schere in das Hinterhauptsloch eingeführt und die Schädelkapsel auf beiden Seiten soweit aufgeschnitten, bis das gesamte Schädeldach mit einer stabilen Pinzette abgehoben werden konnte. Nach Entfernung der Dura mater wurde das Gehirn mit einem schmalen Spatel vorsichtig aus der Schädelkapsel herausgehoben und in ein Becherglas mit begastem Medium gegeben, welches in einem Eisbad stand. Durch diese Abkühlung wurde das Gewebe weniger klebrig und konnte im folgenden viel leichter präpariert werden als bei Körpertemperatur.

Auf einem mit kaltem Medium getränkten Filterpapier wurde das Gehirn in seine beiden Hälften zerteilt. Jede Hälfte wurde dorso-lateral gelagert, Reste des Hirnstammes und die medialen Teile des Diencephalons wurden entfernt, bis die medio-ventrale Oberfläche des Hippocampus sichtbar war. Die Fasern an dessen beiden Enden wurden durchtrennt und nach Einsetzen einer abgerundeten Plastikmesserspitze unter die dorsale Oberfläche des Hippocampus konnte dieser in seiner ganzen Länge herausgeklappt werden (nach Teyler 1980).

Zur Herstellung von Slices aus den Hippocampi wurde ein "McIlwain Mechanical Tissue Chopper" (The Mickle Laboratory Engineering Co.Ltd., Gomshall, Surrey GU59LJ, UK) verwendet. Die gewählte Schnittdicke betrug 400 Mikrometer (nach Teyler 1980).

Die Slices wurden bis zur Beendigung des Schneidevorgangs in einer kleinen Schale mit begastem Medium aufbewahrt, dann wurden sie in der Ableitkammer inkubiert.

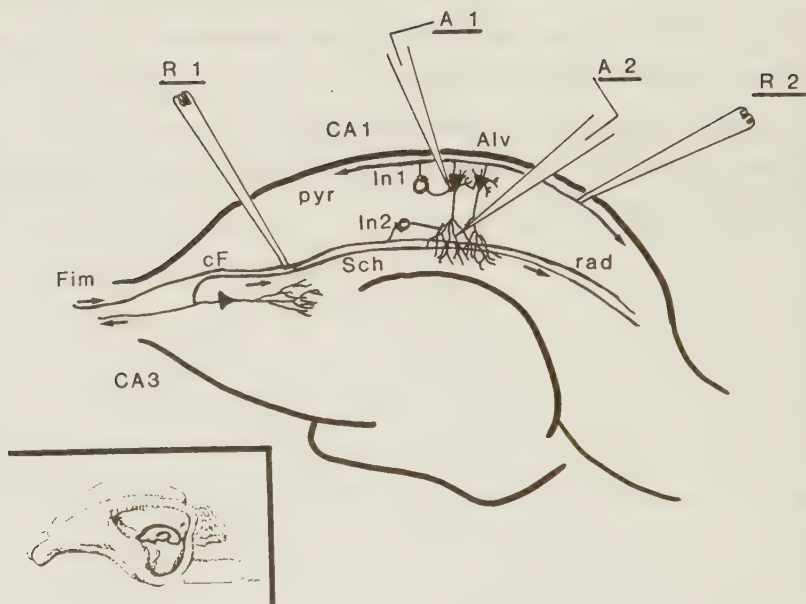


Abb.2

Schematische Darstellung von CA1-Pyramidenzellen in einem Hippocampus-Slice und den in der vorliegenden Arbeit benutzten Positionen von Reiz- (R 1, R 2) und Ableitelektroden (A 1, A 2)

weitere Abkürzungen:

Alv = Alveus, CA1 bzw. CA3 = bestimmte Areale des Cornu ammonis = Hippocampus, cF = commissurale Fasern, Fim = Fimbria, In1 bzw. In2 = funktionell verschiedene Interneurone, pyr = Somaschicht der Pyramidenzellen, rad = Dendritenschicht der Pyramidenzellen, Sch = Schaffer-Kollateralen

Der Bildeinsatz links unten zeigt die Lage des Hippocampus im Rattegehirn

3.3. Hippocampus-Slice

Die Hirnrinde (Cortex cerebri) umhüllt bei allen Wirbeltieren die 'subcorticalen' Teile des Telencephalons wie ein Mantel. Phylogenetisch kommt es jedoch bei den Säugetieren zu einer wesentlich stärkeren Ausbildung dieses Cortexmantels (Neocortex) (Creutzfeldt 1983). Dabei wird der ursprüngliche Archicortex nach basal und medial gedrängt, wodurch es zur typischen Einrollung des Hippocampus kommt. Der Hippocampus der Säugetiere ist in parallelen, zu seiner Längsachse mehr oder weniger senkrechten Lamellen organisiert, die seine Hauptzelltypen mit ihren Dendritenbäumen und untereinander verbindenden Axonen nahezu in einer Ebene liegend enthalten (Andersen et al. 1971). Auf Grund dieser Lamellenstruktur ist der Hippocampus für Slice-Versuche besonders geeignet (Skrede und Westgaard 1971, Andersen 1981).

Das Stratum pyramidale (pyr, vergleiche Abb.2) in der CA1-Region eines Hippocampus-Slice enthält viele relativ große Pyramidenzellen, deren apikale Dendritenbäume sich bis in das Stratum radiatum (rad) erstrecken. Dort bilden sie zahlreiche Synapsen mit den afferenten Schaffer-Kollateralen der CA3-Zellen (Sch) und mit den, über die Fimbria (Fim) eintretenden, sog. commissuralen Fasern (cF) des kontralateralen Hippocampus. Durch elektrische Reizung im Stratum radiatum (R 1) werden die CA1-Pyramidenzellen also orthodrom erregt. Außerdem werden noch Interneurone (In2) stimuliert (Frotscher et al. 1984), welche eine 'feed-forward'-Hemmung an den Dendriten der Pyramidenzellen bewirken (Alger und Nicoll 1982, Ashwood et al. 1984). Als Antwort registriert eine intrazelluläre Ableitelektrode im Soma von Pyramidenzellen (A 1) dann unterschwellig eine EPSP-IPSP Sequenz, überschwellig ein Aktionspotential (Abb.3 A). Da viele Pyramidenzellen sehr dicht beieinander liegen,

können ihre reizbedingten Aktionspotentiale auch extrazellulär als schmale negative Wellen, genannt Summen-Aktionspotentiale (Andersen et al. 1971), abgeleitet werden (Abb.3 B).

Die basal abgehenden Axone der CA1-Neurone sammeln sich im Alveus (Alv), wo sie sich gabeln und in den Neocortex bzw. über die Fimbria zum kontralateralen Hippocampus verlaufen. Von rekurrenten Axonkollateralen der Pyramidenzellen werden die sog. Korbzellen stimuliert. Die Axone dieser, vermutlich GABA-ergen (Ribak et al. 1978) Interneurone (In1) bilden ein dichtes Geflecht um die Pyramidenzell-Somata (Ramon y Cajal 1911, Lorente de No 1934) und bewirken dadurch deren "feedback"-Hemmung (Andersen et al. 1964 a,b). Bei Reizung des Alveus (R 2) erscheint also in den Pyramidenzellen in der Regel ein rekurrent erzeugtes IPSP, bei höheren Reizstärken treten Aktionspotentiale mit deutlich kürzerer Latenz als bei orthodromer Reizung auf (Abb.3 C).

Das zelluläre Korrelat der, als Erkennungszeichen epileptischer Aktivität "in vivo" geltenden, "interictal spikes" des EEG sind spontane und/oder reizbedingte "Bursts" (Abb.3 D, unten). Darunter versteht man eine Serie von regenerativen Aktionspotentialen, denen eine große depolarisierende Welle zugrunde liegt (Alger 1984). Wenn diese "Bursts" in vielen Zellen synchron auftreten, sind sie auch extrazellulär als eine Reihe von Summen-Aktionspotentialen erkennbar (Schwartzkroin und Prince 1977, 1978) (Abb.3 D, oben).

CA1-Pyramidenzelle

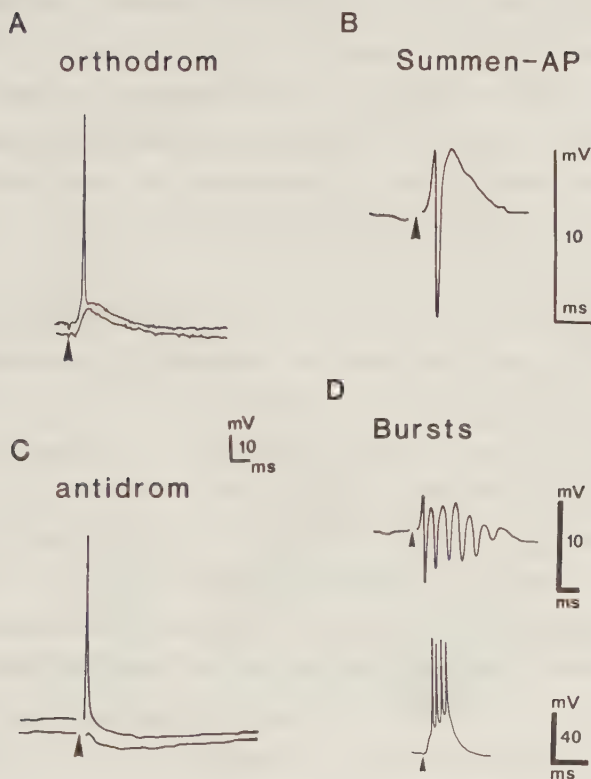


Abb.3

In der CA1-Region eines Hippocampus-Slice abgeleitete Potentiale bei verschiedenen Positionen von Reiz- und Ableitelektroden

A - EPSP bzw. orthodromes Aktionspotential

B - Extrazelluläres Summen-Aktionspotential

C - IPSP bzw. antidromes Aktionspotential

D - extra- und intrazellulärer "Burst"

Schwarze Dreiecke kennzeichnen jeweils, auch in allen folgenden Abbildungen, den Zeitpunkt des Reizes. Die Reizartefakte selbst sind der besseren Übersichtlichkeit wegen immer weggelassen.

3.4. Ableitkammer

Die Ableitkammer war in einer Heizkammer (Durchmesser 12 cm, Grundmodell: Fa. Zebisch, Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München, nach Spencer et al. 1976) befestigt und durch eine Öffnung von 3 cm Durchmesser im abnehmbaren Deckel der Heizkammer von oben zugänglich (Abb.4). Die Slices wurden auf ein Nylonnetz gelegt, welches straff über die Ableitkammer gespannt war (Teyler 1980).

Eine Schlauchpumpe (Minipuls 2, Fa. Abimed, Düsseldorf) pumpte das Nährmedium, dem gegebenenfalls Valproat in einer bestimmte Konzentration beigemischt war, mit einem Fluß von 1 ml/min aus einem Vorratskolben zur äußeren Heizkammer. In dieser wurde ca. 2 cm hoch eingefülltes Wasser durch einen Heizdraht mit Regler (Fa. Meyer und Renz, MPI für Psychiatrie, München) auf einer konstanten Temperatur gehalten. Das begaste Medium floß in einem mehrfach gewundenen, sehr dünnwandigen Schlauch durch dieses Wärmebad und wurde dadurch noch auf ungefähr 34 Grad Celsius erwärmt. Dann floß das Medium unter das Netz der Ableitkammer, auf dem die Slices lagen. Als wesentliche Verbesserung im Vergleich zur ursprünglichen Kammer war ein NTC-Widerstand (Typ K 22, Fa. Siemens, Nürnberg) zur Temperaturregelung so eingebaut, daß er direkt unter dieses Netz ragte (vorher ins Wärmebad).

Eine weitere wichtige Veränderung bestand darin, daß ein kleiner Plastikbehälter außen an die Wand der Ableitkammer geklebt war. Das Medium wurde vom Rand des Netzes durch ein Stückchen Filterpapier in diesen Behälter gesaugt und aus diesem von einem zweiten Kanal der Schlauchpumpe abgepumpt.

Außerdem wurde noch Carbogen in die Heizkammer geleitet, welches zuvor in zwei Waschflaschen angefeuchtet wurde, so daß die Slices in der Grenzfläche zwischen warmem, begastem Medium und warmem,

feuchtem Carbogen lagen.

Ein Ag/AgCl Pellet in der Ableitkammer diente als Referenzelektrode gegen Erde.

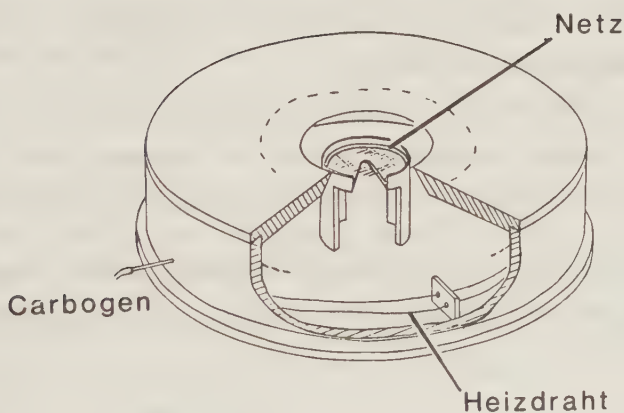


Abb.4

Schematische Darstellung der Ableitkammer in der Heizkammer mit Deckel (aus Spencer et al. 1976, verändert)

3.5. Reizeinrichtung

Als Reizelektroden dienten die blanken Enden von zwei lackisolierten, 100 Mikrometer dünnen Stahldrähten, die auf ca. 3 cm umeinander gewunden waren. Diese Spitzen waren mit Drähten verbunden, die in 25 cm langen dünnen Glasrohren verliefen, um die Befestigung in Mikromanipulatoren (Fa. Märzhäuser, Wetzlar) zu ermöglichen.

Die Reizelektroden waren an Reiz-Isolationseinheiten (Typ HG 203, Fa. Hi-Med, UK, Vertrieb: Fa. List-Electronic, Darmstadt) angeschlossen, wobei die maximale Reizstärke 3 mA bei Konstantstrom-Ausgang betrug.

Die Isolationseinheiten wurden von einem Reizgerät in Digitaltechnik (Fa. Hi-Med) gesteuert, an dem die Pulsdauer (0,1 ms) und die Verzögerung zwischen Trigger- und Reizpuls eingestellt wurde.

Mit einem Triggerpuls dieses Reizgerätes wurden auch die Geräte der Ableite- und Registriereinrichtung synchronisiert.

3.6. Ableitung

Zur Herstellung von Ableitelektroden dienten Mikroglaskapillaren mit Filament von 10 cm Länge und 2 mm Außendurchmesser. Nach dem Ziehen mit einem Vertikalpuller (Fa. Narishige, Tokio) wurden die Elektroden mit 3 M Kaliumacetat (pH 7,0) gefüllt.

Die Kapillaren waren durch einen WPI-Mikroelektrodenhalter mit dem Meßkopf eines Verstärkers (Fa. WPI Typ M-707, Vertrieb: Fa. Science-Trading, Frankfurt) verbunden. Der Meßkopf war entweder auf einem direkt von Hand zu drehenden Mikrotrieb (Fa. Narishige) oder auf einem hydraulischen, von Hand ferngesteuerten Mikrotrieb (Fa. Clark, Vertrieb: Fa. Science Trading) befestigt.

Auf den "external test"-Eingang des Verstärkers wurde zur Messung des Elektrodenwiderstandes von einer Isolationseinheit ein Spannungspuls gegeben. Er dauerte 3 ms und hatte eine Amplitude von 100 mV, was am Verstärkerausgang ein Signal von 1 mV pro 10 MegOhm Elektrodenwiderstand ergab. Die Elektroden, mit denen die besten intrazellulären Ableitungen gelangen, hatten Widerstände von 50 bis 80 MegOhm.

Der Verstärker war so modifiziert worden, daß mittels eines kleinen Druckknopfes die bei der Kapazitäts-Kompensation benutzte positive Rückkopplung kurz angeschaltet werden konnte. Die dadurch erzeugten Vibrationen der Kapillarenspitzen sollten deren Eindringen in die Zellen erleichtern (nach Assaf et al. 1981).

3.7. Registrierung

Die abgeleiteten Signale wurden auf jeweils einem Kanal eines Zweistrahlspeicheroszilloskopen (Typ 5113 mit Vorverstärker 5 A 26, Tektronix GmbH, Köln) und eines Digital-Speicheroszilloskopen (Model 206 Explorer III, Nicolet Instruments GmbH, Offenbach) optisch dargestellt, sowie mit einem Tonsystem akustisch überwacht und auf einem FM-Kanal eines Magnetbandgerätes (Analog 714, Philips, Kassel) zur weiteren Auswertung gespeichert.

Auf den jeweils zweiten Kanälen der beiden Oszilloskope bzw. auf einem weiteren FM-Bandkanal konnten Ströme dargestellt bzw. aufgezeichnet werden, die in die Zellen injiziert wurden. Diese Stromapplikation geschah erdfrei mit Hilfe von Reiz-Isolationseinheiten über den "stimulus"-Eingang des Verstärkers, wobei Spannungs- in Strompulse im Verhältnis 0,5 nA/10 mV umgewandelt wurden.

Um die spätere Auswertung erheblich zu erleichtern, wurde mit Hilfe eines "micropulse calibrators" (WPI 210) sowohl auf der Signalaus- als auch auf der Stromspur unmittelbar nach jedem Triggerpuls ein Eichpuls von 10 ms Dauer und 10 mV Amplitude dargestellt.

Während der Aufnahmen diente ein Zweistrahloszilloskop (Tektronix 5112) am Wiedergabeausgang des Bandgeräts ("Hinter-Band") zur Kontrolle, außerdem wurden auf einen Tonkanal des Bandgeräts mündliche Kommentare aufgenommen.

4. ERGEBNISSE

4.1. Barium als epileptogene Substanz

Barium-Ionen im Medium stören die fein aufeinander abgestimmte Balance von Calcium-Einwärtsströmen und Kalium-Auswärtsströmen in den CA1-Pyramidenzellen. Es kommt zu einer andauernden depolarisierenden und hyperpolarisierenden Oszillation des Membranpotentials und damit verbunden zu rhythmischen spontanen "Bursts" in den Zellen (Zusammenfassung: Hotson 1982). Diese repetitive Aktivität ist nur intrazellulär und nicht extrazellulär zu beobachten, da sie in verschiedenen Zellen völlig asynchron auftritt. Sie kann auch nicht durch Reizung evoziert werden (Hotson und Prince 1981).

Durch Zugabe von 0,5 mmol/Liter Barium-Chlorid ins Medium (- in diesem Fall wurde NaH_2PO_4 im Medium weggelassen und MgSO_4 durch MgCl_2 ersetzt -) wurden in CA1-Neuronen derartige spontane, rhythmische "Bursts" mit einer Frequenz von knapp 1 Hz erzeugt (Abb.5 A). Sie bestehen meist aus mehr als 10 Aktionspotentialen, denen eine ca. 100 ms dauernde depolarisierende Welle zugrunde liegt (Abb.5 C).

Enthält das Medium zusätzlich 11 mmol/Liter Valproat, so zeigen auch nach 4 Stunden noch alle abgeleiteten Zellen rhythmische Depolarisierungen des Membranpotentials mit ungefähr derselben Frequenz von 1 Hz (Abb.5 B). Diese Depolarisierungen sind jedoch meist kürzer und lösen nicht mehr so viele Aktionspotentiale aus wie unter Kontrollbedingungen (Abb.5 D).

Spontane Barium-Bursts

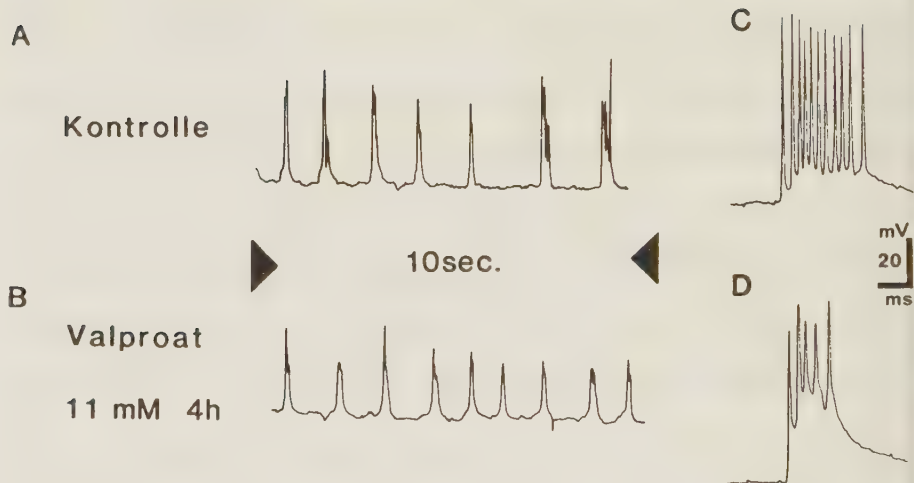


Abb.5

Valproat-Wirkung auf Barium-bedingte "Bursts"

- A - Intrazelluläre spontane "Bursts" in Barium-Medium
- B - dto. nach vierstündiger Zugabe von Valproat (11 mmol/Liter)
- C - Einzelner "Burst" vor und
- D - unter Valproat-Einwirkung

4.2. Penicillin und Bicucullin

Durch Zugabe von Penicillin ins Medium kann man ebenfalls spontane, aber anders als unter Barium, eher sporadisch auftretende 'Bursts' erzeugen. Die Aktionspotentiale dieser Salven sind in vielen benachbarten Zellen synchronisiert und daher auch extrazellulär als spontane Summen-'Bursts' von bis zu 8 Summen-Aktionspotentialen (Schwartzkroin und Prince 1977, 1978, Alger 1984) erkennbar. Ein weiterer Unterschied zur repetitiven Aktivität unter Barium besteht darin, daß diejenige unter Penicillin auch durch afferente Reizung synaptisch evoziert werden kann (Hotson 1982).

Penicillin blockiert die GABA-Rezeptoren, verhindert dadurch IPSPs und erlaubt entfernten (dendritischen) excitatorischen Einflüssen, zum Soma zu gelangen und Aktionspotentiale zu triggern (Dingledine und Gjerstad 1979). Reizbedingte 'Bursts' nach vermutlich demselben Mechanismus (Woodbury 1983) können auch durch Bicucullin erzeugt werden (Schwartzkroin und Prince 1980).

Enthielt das Medium 1,7 bis 3,4 mmol/Liter Na-Penicillin-G, so traten in der CA1-Region spontan und nach Reizung im Stratum radiatum Salven von Summen-Aktionspotentialen auf (Abb.6 A).

Wird dem Medium Valproat beigemischt, verschwinden die spontanen Summen-'Bursts' und erscheinen erst einige Zeit nach Auswaschen des Valproats wieder.

In den reizbedingten Summen-'Bursts' werden bei einer bestimmten, gleichbleibenden Reizstärke die Anzahl der Summen-Aktionspotentiale durch Valproat deutlich reduziert (Abb.6 B, links).

Bei dieser Wirkung von Valproat besteht ein exponentieller Zusammenhang zwischen der gewählten Valproat-Konzentration und der Zeit, die vergeht, bis bei einer bestimmten Reizstärke die Anzahl der Summen-Aktionspotentiale auf die Hälfte der ursprünglichen Anzahl

reduziert ist (Abb.7).

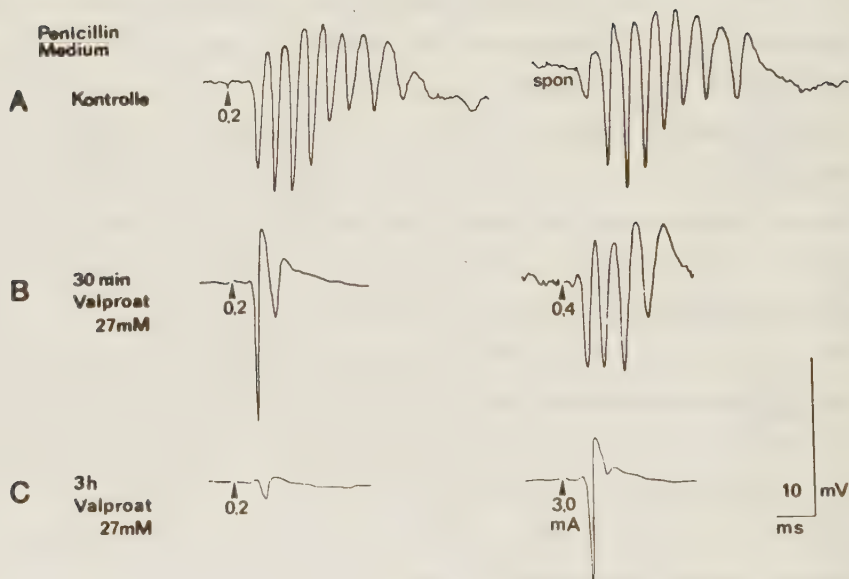


Abb.6

Valproat-Effekt auf repetitive Entladungen unter Penicillin

A - Reizbedingte und spontane extrazelluläre 'Bursts' unter Penicillin

B - Bei einer bestimmten Reizstärke reduziert Valproat die Anzahl der Summen-Aktionspotentiale, doppelte Reizstärke hebt diesen Effekt zum Teil wieder auf

C - Nach längerer Valproat-Einwirkung ruft die ursprünglich 'Burst'-auslösende Reizstärke nur noch eine winzige Reizantwort hervor, selbst sehr hohe Reizstärken evozieren keine repetitiven Entladungen mehr

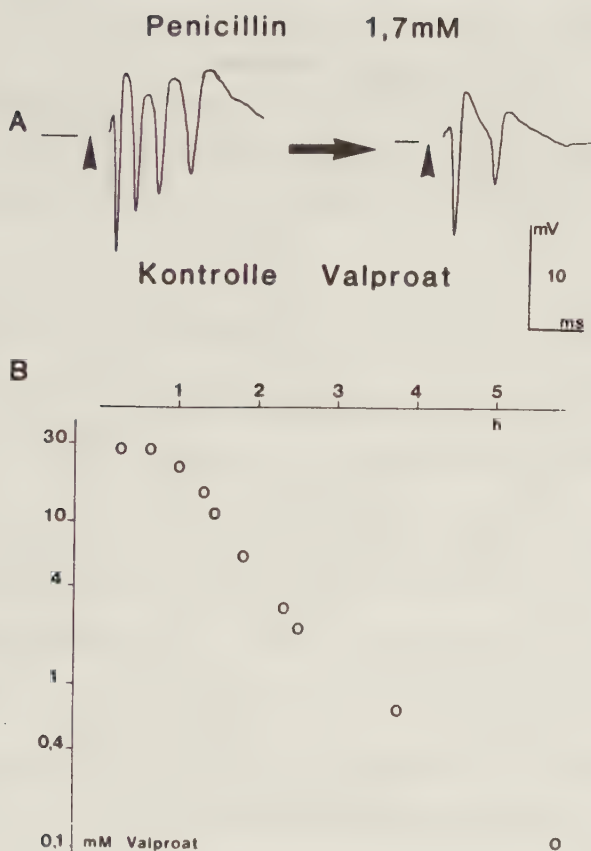


Abb.7

Valproat-Effekt auf extrazelluläre Penicillin-*"Bursts"*

A - Die Anzahl der Summen-Aktionspotentiale in *"Bursts"* unter Penicillin wird durch Valproat reduziert

B - Zusammenhang zwischen der Valproat-Konzentration und der Zeit, bis die Anzahl der Summen-Aktionspotentiale halbiert ist

Diese Blockierung der repetitiven Entladungen kann durch höhere Reizstärken zum Teil wieder aufgehoben werden (Abb.6 B, rechts). Längere Einwirkung von Valproat führt bei der anfangs "Burst"-auslösenden Reizstärke nur noch zu winzigen Reizantworten. Diese können selbst durch sehr hohe Reizstärken nur in der Amplitude vergrößert, aber nicht mehr zu "Bursts" gesteigert werden (Abb.6 C).

Die Wirkung von Valproat auf die Erregungsteigerung unter Penicillin und Bicucullin wurde auch intrazellulär untersucht.

Während der Zugabe von Valproat (15 bzw. 3 mmol/Liter) verschwinden spontane Penicillin-"Bursts".

In den reizbedingten Salven unter Penicillin oder Bicucullin nimmt bei gleichbleibender Reizstärke die Anzahl der Aktionspotentiale mit der Zeit ab (Abb.8 A) bzw. die Reizstärke zur Auslösung eines "Bursts" mit vorgegebener Anzahl von Aktionspotentialen steigt stark an (Abb.8 B). Deutlich wird auch die den Aktionspotentialen zugrunde liegende Depolarisation kleiner (Abb.8 A).

Die intrazellulär festgestellte Wirkung des Valproats entspricht also der extrazellulär beobachteten.

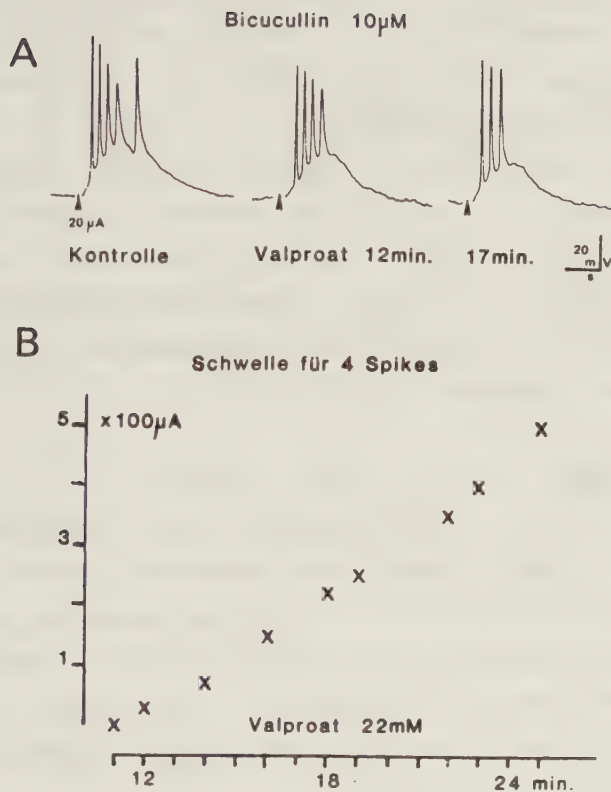


Abb.8

Valproat-Wirkung auf intrazelluläre Bicucullin-"Bursts"

A - Valproat blockiert der Reihe nach die Aktionspotentiale, die zugrunde liegende Depolarisation wird kleiner

B - Die Reizstärke, die nötig ist, um einen "Burst" mit 4 Aktionspotentialen auszulösen, steigt stark an

4.3. Pentylentetrazol und Strychnin

Pentylentetrazol (PTZ) verstärkt excitatorische Systeme durch direkte Membraneffekte und dadurch, daß es die inhibitorische GABA-Wirkung, nämlich die Erhöhung von Chlorid-Leitfähigkeiten, verhindert (Woodbury 1983).

Strychnin ist ein bekannter Antagonist an Glycin-Rezeptoren (Woodbury 1983) und blockiert so hemmende Clorid-Kanäle. Yamamoto (1972) beschrieb, daß Körnerzellen in Hippocampus-Slices auf Zugabe von Strychnin ins Medium als Reizantwort repetitive Entladungen zeigen. Der Mechanismus dieser Erregungssteigerung im Hippocampus ist jedoch unbekannt.

Durch Zugabe von PTZ (15 mmol/Liter) bzw. von Strychninnitrat (0,03 mmol/Liter) ins Medium konnte diese Erregungssteigerung der CA1-Zellen bewirkt werden. Bei orthodromer Reizung mit gleichbleibender Reizstärke, die in Normalmedium nur ein einzelnes Summen-Aktionspotential hervorruft, entwickeln sich "Bursts" aus mehreren Summen-Aktionspotentialen. Applikation von Valproat (11 mmol/Liter) macht diese Erregungssteigerung rückgängig (Abb.9 A).

Bei intrazellulären Ableitungen reduziert Valproat (11 mmol/Liter) bei gleichbleibender Reizstärke die Anzahl der Aktionspotentiale, bis zum Teil nur noch EPSPs übrigbleiben (Abb.9 B), bzw. es erhöht - genau wie im Fall des Bicucullin (vergl. Abb.8 B) - die Reizstärke, die zur Auslösung eines "Bursts" mit einer vorgegebenen Anzahl von Entladungen nötig ist. Dieser Effekt ist reversibel, beim Auswaschen von Valproat durch Kontrollmedium kehrt die repetitive Aktivität zurück (Abb.9 B).

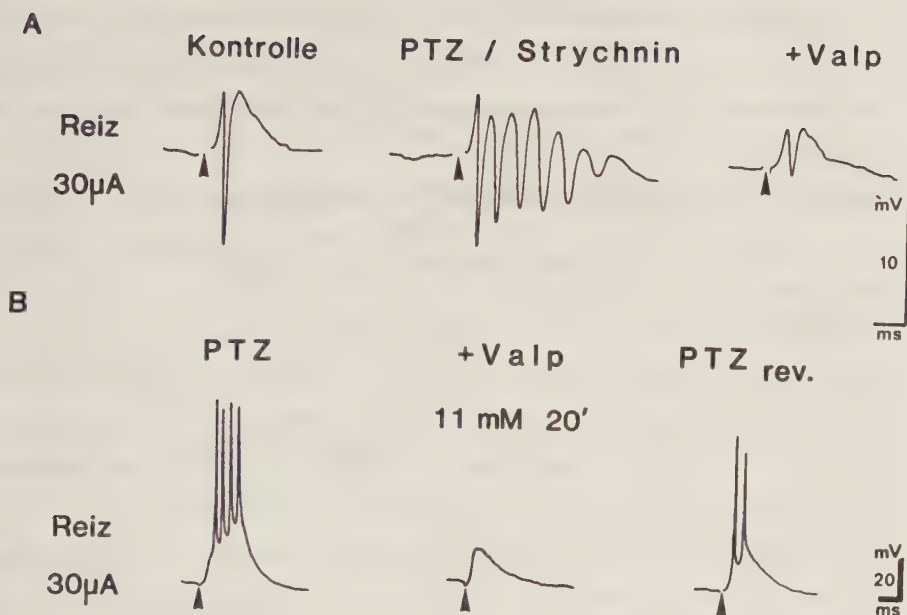


Abb.9

Valproat-Effekt in PTZ- und Strychnin Medium

A - bei gleichbleibender orthodromer Reizstärke werden repetitive Entladungen blockiert

B - Valproat reduziert die Anzahl der Aktionspotentiale in diesem (PTZ-)Beispiel bis zum EPSP. Dieser Effekt ist reversibel

4.4. Calcium-freies Medium

In Calcium-freiem Medium wird die Freisetzung von Neurotransmittern und damit jede synaptische Übertragung völlig blockiert (Richards und Sercombe 1970, Schwartzkroin und Prince 1978). Bei Reizung im Alveus zeigt sich statt eines antidromen Summen-Aktionspotentials wegen der blockierten rekurrenten Hemmung eine lange Reihe von sehr vielen Summen-Aktionspotentialen (Taylor und Dudek 1982).

In diesem Zusammenhang viel entscheidender ist jedoch, daß in Calcium-freiem Medium außerdem nach ca. 1 Stunde Inkubation in der CA1-Region relativ rhythmische "Bursts" auftreten, die sich extrazellulär in negativen Wellen mit überlagerten Summen-Aktionspotentialen äußern (Jefferys und Haas 1982). Haas und Jefferys (1984) führen diese synchronen repetitiven Entladungen bei blockierter synaptischer Transmission auf Wechselwirkungen von elektrischen Feldern zurück.

Bei Verwendung von Calcium-freiem Medium (- welches zudem 6 mmol/Liter KCl anstatt 3 mmol/Liter enthielt, nach Haas und Jefferys (1984) -) konnten extrazellulär spontane negative Wellen und bei antidromer Reizung repetitive Entladungen erzeugt werden.

Bei Zugabe von Valproat (11 mmol/Liter) verschwinden die spontanen negativen Wellen sehr rasch (Abb.10 A). Dieser Effekt ist beim sofortigen Auswaschen von Valproat reversibel, nach längerer Valproat-Applikation jedoch nicht mehr.

Applikation von Valproat über 3 Stunden blockiert nur die allerletzten Summen-Aktionspotentiale der antidromen "Bursts" (Abb.10 B) und beeinflusst die repetitiven Entladungen zu Beginn - verglichen mit den orthodromen "Bursts" - fast gar nicht.

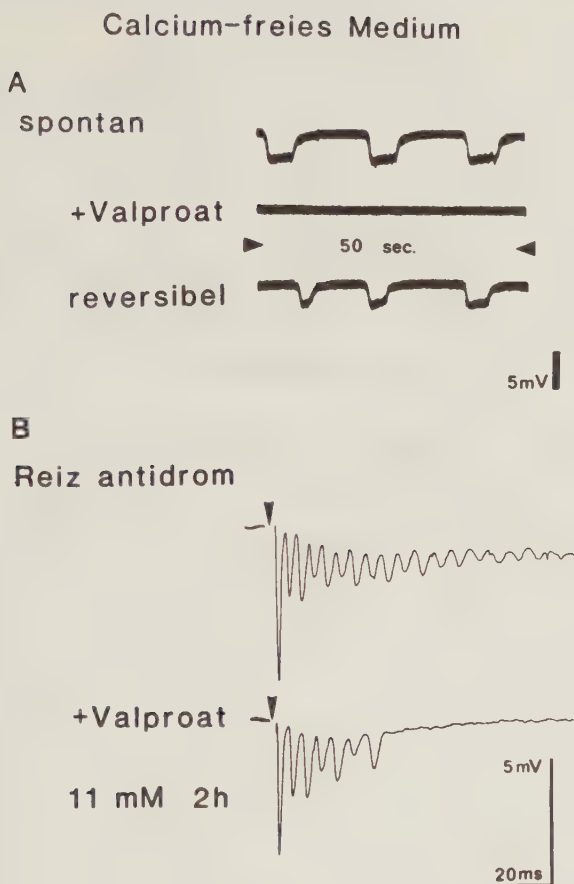


Abb.10

Valproat-Wirkung in Calcium-freiem Medium

A - spontane negative Wellen bei extrazellulärer Ableitung verschwinden unmittelbar nach Valproat-Zugabe, bei sofortigem Auswaschen von Valproat treten sie wieder auf

B - repetitive Summen-Aktionspotentiale bei antidromer Reizung werden durch Valproat fast nicht beeinflusst

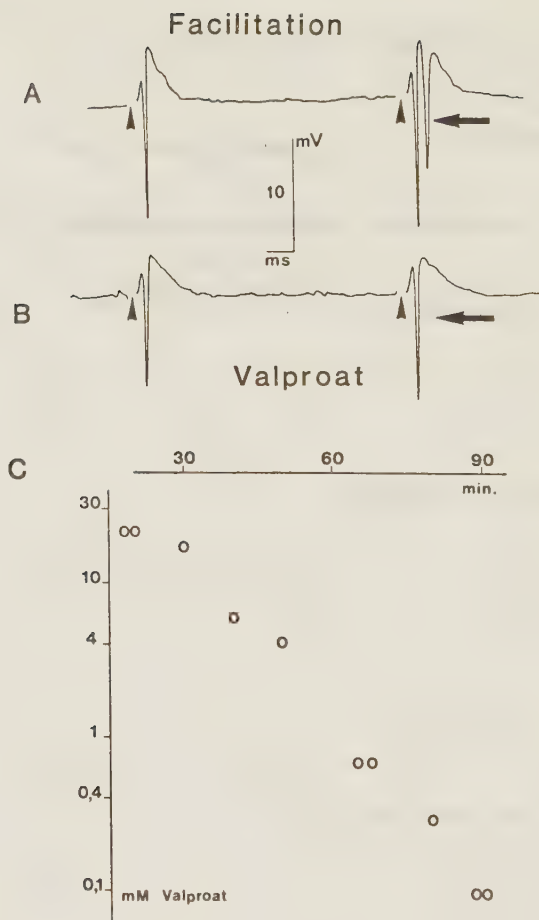


Abb.11

Valproat-Effekt auf Doppelreiz-Facilitation

- A - Testreiz nach konditionierendem Reiz bewirkt Facilitation von Summen-Aktionspotentialen in der CA1-Region
- B - Valproat blockiert diese Doppelreiz-Facilitation
- C - Zusammenhang zwischen der Valproat-Konzentration und der Zeit, bis die Blockierung vollständig ist

4.5. Summenpotentiale in Normalmedium

Doppelreiz-Facilitation

Folgt einem konditionierenden Reiz im Stratum radiatum mit ca. 80 ms Abstand ein Testreiz gleicher Stärke, so erscheinen nach diesem im Stratum pyramidale zwei Summen-Aktionspotentiale (Abb.11 A). Diese Doppelreiz-Facilitation (Lynch und Schubert 1980) ist eine Möglichkeit, auch in normalem Medium ohne Zugabe von epileptogenen Substanzen repetitive Entladungen zu erzeugen.

Zugabe von Valproat blockiert diese Doppelreiz-Facilitation (Abb.11 B). Dabei besteht bei gleichbleibender Reizstärke ein exponentieller Zusammenhang zwischen der gewählten Valproat-Konzentration und der Zeit, die vergeht, bis Valproat die Facilitation völlig blockiert hat (Abb.11 C).

Synaptische Potentiale im Stratum radiatum

Wurde im Stratum radiatum gereizt und dort, in der synaptischen Region der CA1-Pyramidenzellen, auch abgeleitet (vergleiche Abb.2, Position der Ableitelektrode A 2), so wurden extrazellulär negative Potentiale beobachtet, die üblicherweise als Summen-EPSPs gedeutet werden (Andersen et al. 1980).

In dieser Untersuchung gelangen jedoch Ableitungen von Aktionspotentialen in dieser Region, die wegen der klaren zeitlichen Korrelation mit den Summenpotentialen diese als Summen-Aktionspotentiale der erregten Dendriten erscheinen lassen (Abb.12 A).

Applikation von Valproat verkleinert diese Summenpotentiale im

Stratum radiatum stark (Abb.12 B).

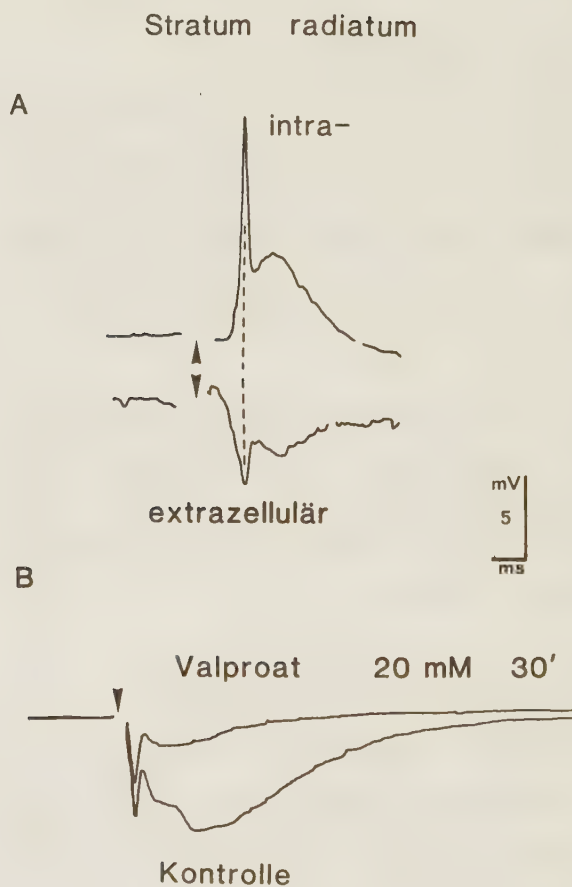


Abb.12

Valproat-Wirkung auf Summenpotentiale im Stratum radiatum

A - Korrelation zwischen intrazellulären und extrazellulären Potentialen im Stratum radiatum bei orthodromer Reizung

B - Valproat vermindert die Summenpotentiale im Stratum radiatum

4.6. Vergleiche von Zellpopulationen

Um festzustellen, welche Wirkung Valproat auf bestimmte Zellparameter der CA1-Pyramidenzellen hat, wurden diese Parameter von Zellpopulationen in Kontrollmedium und in Medium, welches zwischen 3 und 27 mmol/Liter Valproat enthielt, gemessen. Die Mittelwerte der Zellparameter aus Kontrollmedium und Valproat-haltigem Medium wurden dann miteinander verglichen (analog zu: Schneiderman und Schwartzkroin 1982).

Der Ruhemembranwiderstand von Zellen ließ sich aufgrund des resultierenden Spannungsabfalls an der Zellmembran bei Injektion eines Stromes von $-0,5 \text{ nA}$ und 150 ms Dauer berechnen. Das Ruhemembranpotential von Zellen wurde als Unterschied der Potentialwerte innerhalb und, nach dem Herausziehen der Ableitelektrode, außerhalb der Zelle bestimmt. In den Zellen, bei denen Reizung des Stratum radiatum oder des Alveus ein Aktionspotential (AP) von mindestens 60 mV Amplitude hervorrief, wurde die maximale AP-Amplitude gemessen.

Tabelle 1

Ruhemembranwiderstand in MegOhm

Kontrolle	23 +- 6	(n=27)
Valproat	23 +- 7	(n=22)

Ruhemembranpotential in mV

Kontrolle	54 +- 8	(n=25)
Valproat	54 +- 10	(n=22)

AP-Amplitude in mV

Kontrolle	77 +- 11	(n=84)
Valproat	77 +- 10	(n=62)

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, ergab der Vergleich der Mittelwerte von Zellen in normalem und in Valproat-haltigem Medium, daß Valproat bei diesen Versuchen keinen Einfluß auf den Ruhemembranwiderstand, das Ruhemembranpotential und die Aktionspotential-Amplitude hatte.

Bedingt durch Unterschiede bei der Präparation und bei der Platzierung der Reizelektroden konnten Aussagen zur Wirkung von Valproat auf die Reizschwelle nur dann getroffen werden, wenn alle Werte aus ein- und demselben Slice stammten. In sechs Slices wurde die zur Auslösung eines Aktionspotentials benötigte Reizstärke in Zellpopulationen vor und nach Zugabe von Valproat gemessen.

Die Mittelwerte im Kontrollmedium wurden jeweils auf die relative Einheit 1 normiert und die Mittelwerte unter Valproat darauf bezogen. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

Tabelle 2

Beispiel Nr.1-4 in Normalmedium bei Reiz im Stratum radiatum/ Nr.5 in Normalmedium bei Reiz im Alveus/ Nr.6 in Penicillin-Medium bei Reiz im Stratum radiatum

Nr:	Kontrolle	(Anzahl n)	Valproat	mmol/Liter
1	1 +- 0.1	(5/3)	1,6 +- 0.1	15
2	1 +- 0.2	(6/3)	2,3 +- 0,4	27
3	1 +- 0.2	(4/3)	2.5 +- 0,8	11
4	1 +- 0.3	(3/5)	2,7 +- 1.4	27
5	1 +- 0,4	(5/6)	3,4 +- 2,1	11
6	1 +- 0,2	(7/6)	3,3 +- 0.8	27

Es ergab sich in allen betrachteten Zellpopulationen, daß die Reizstärke, die zur Auslösung eines Aktionspotentials nötig war, unter Valproat-Einfluß deutlich erhöht war.

4.7. Einzelne Zellen in Normalmedium

Verschiedene intrazelluläre Potentiale wurden in einzelnen CA1-Pyramidenzellen während gleichzeitiger Zugabe von Valproat ins Medium untersucht.

In manchen Zellen wurde bei - eigentlich antidromer - Reizung des Alveus beobachtet, daß den ausgelösten Aktionspotentialen ein EPSP zugrunde lag. Diese Zellen wurden mit den im Stratum radiatum - orthodrom - gereizten Zellen, die alle ein EPSP zeigten, hier als synaptisch erregte Zellen zusammengefaßt.

In 23 solchen Zellen stieg die zur Auslösung eines Aktionspotentials benötigte Reizstromstärke an, wenn zwischen 6 und 27 mmol/Liter Valproat ins Medium zugegeben wurden (Abb.13 A).

Dies war nicht der Fall in 4 Zellen, in denen während der Zugabe von 3 mmol/Liter Valproat abgeleitet wurden.

Der Anstieg der benötigten Reizstärke war in 10 Zellen reversibel, die noch lange genug während des Auswaschens von Valproat beobachtet werden konnten.

In 10 von 11 Zellen wurde diejenige Reizstärke bestimmt, die anfangs knapp unterschwellig war, d.h. nur EPSPs und noch keine Aktionspotentiale hervorrief. Blieb diese Reizstärke unverändert, so wurden die EPSPs während der Valproat-Applikation deutlich kleiner (Beispiel Abb.13 C).

Wurden durch Alveus-Reizung tatsächlich antidrome Aktionspotentiale ausgelöst, stieg die dafür benötigte Reizstärke in 4 von 6 Zellen bei Zugabe von 3 bis 15 mmol/Liter Valproat.

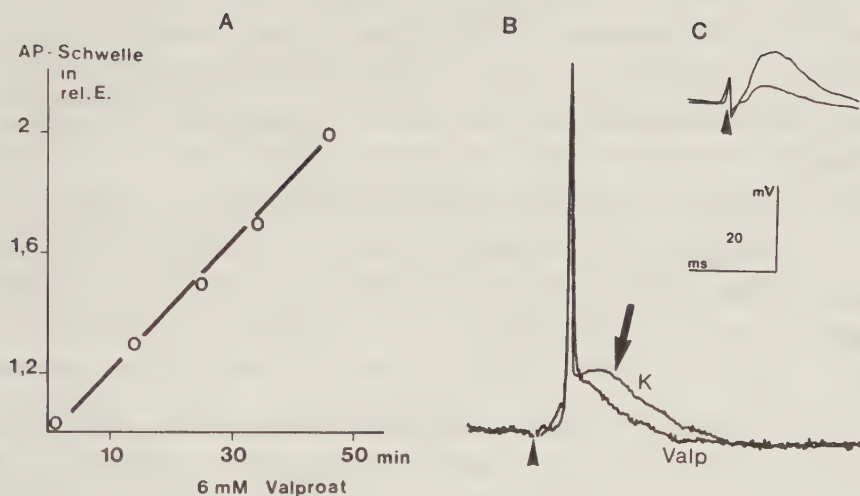


Abb.13

Intrazelluläre Veränderungen während Valproat-Applikation am
Beispiel einer Zelle

- A - Die zur Auslösung eines synaptisch erregten Aktionspotentials benötigte Reizstärke steigt an
- B - Das dem AP folgende depolarisierende Nachpotential (DAP) wird kleiner
- C - Bei gleichbleibender unterschwelliger Reizstärke wird das EPSP kleiner

In normalem Medium zeigen viele CA1-Pyramidenzellen nach einem reizbedingten Aktionspotential ein depolarisierendes Nachpotential (Schwartzkroin 1975, 1977) (Abb.13 B, Pfeil), abgekürzt: DAP vom englischen Begriff "depolarizing afterpotential". Bei den Vergleichen der Zellparameter von Zellpopulationen (Abschnitt 3.6.) war bereits aufgefallen, daß in Valproat-haltigem Medium weit seltener Zellen mit einem DAP nach einem Aktionspotential gefunden wurden.

Daher wurden DAPs während gleichzeitiger Applikation von Valproat - 3 bis 15 mmol/Liter - ins Medium beobachtet. In 13 von 16 Zellen wurde das DAP während der Zugabe von Valproat deutlich kleiner (Abb.13 B).

In allen 3 Zellen, in denen durch unterschwellige Reizung im Stratum radiatum ein großes IPSP nach einem EPSP¹ ausgelöst werden konnte, und in 5 von 6 Zellen, in denen durch unterschwellige Alveus-Reizung ein reines rekurrentes IPSP ausgelöst wurde, verkleinerte sich bei Zugabe von Valproat die Amplitude dieser IPSPs. In 2 Zellen, in denen noch lange genug während der Auswaschung von Valproat abgeleitet werden konnte, war dieser Effekt reversibel.

5. DISKUSSION

Valproat-Konzentration

Als therapeutisch wirksame Mindestkonzentration von Valproat im Liquor cerebrospinalis des Menschen werden unter 0,1 mmol/Liter angegeben (Pinder et al. 1977, Kupferberg 1980).

Bei Ratten besteht jedoch ein artspezifischer Unterschied, denn als antiepileptische Konzentration werden mindestens ca. 1 mmol/Liter benötigt (Chapman et al. 1982).

Am Beispiel der repetitiven Aktivität unter Penicillin (Abb.7) und der Doppelreiz-Facilitation in normalem Medium (Abb.11) wurde gezeigt, daß Valproat in diesem Konzentrationsbereich dieselbe Wirkung hatte, wie bei höherer Dosierung. Allerdings wurde wesentlich mehr Zeit benötigt, um diese Wirkung zu erzielen. Diese Tatsache deutet daraufhin, daß Valproat in diesem Präparat einen kumulativen Effekt hat. Bis unter Valproat in geringer Konzentration im Medium eine bestimmte Wirkung auftritt, muß wahrscheinlich eine entsprechend große Menge Medium an den betreffenden Zellen vorbeigeströmt sein. Dies geschieht im Schnittpräparat, das ja keine funktionierenden Kapillaren enthält, ausschließlich durch Diffusion und dauert offenbar relativ lange.

Um das jeweilige Präparat jedoch besser zu nutzen, war bei den anderen beschriebenen Versuchen die applizierte Valproat-Konzentration noch einmal um ungefähr den Faktor 10 höher. (Die Zunahme der Osmolalität des Mediums betrug dabei ziemlich exakt soviel, wie es der Molarität des vollständig dissoziierten Natrium-Valproat entsprach, z.B. bei 11 mmol/Liter Na-Valproat Zunahme um ca. 20 mOsm/kgH₂O)

Solch hohe Konzentrationen mußten bemerkenswerterweise auch bei

allen anderen vergleichbaren "in vitro" Experimenten zur Wirkungsweise von Valproat verwendet werden (Voskuyl 1975, Slater und Johnston 1978, Nosek 1981, Harrison und Simmonds 1982, Preisendörfer et al. 1983, Fohlmeister et al. 1984).

Spontane "Bursts"

Valproat blockierte in Penicillin-haltigem und in Calcium-freiem Medium (Abb.10 A) die jeweils auftretenden spontanen, stark synchronisierten "Bursts". Es hatte keinen Einfluß auf die rhythmischen, aber völlig unsynchronisierten Salven der CA1-Pyramidenzellen unter Barium (Abb.5 A,B). Valproat antagonisiert also nur synchronisierte spontane Aktivität.

Denkbar im Sinne der Hypothese von einem erhöhten GABA-Spiegel (vergleiche 2.2.) wäre es, daß unter Valproat alle Zellen tonisch hyperpolarisiert werden und somit auf synchronisierende Einflüsse nicht mehr mit "Bursts" reagieren können. Die Vergleiche von Zellpopulationen in normalem und Valproat-haltigem Medium (Tabelle 1), sowie intrazelluläre Ableitungen aus CA3-Pyramidenzellen (Preisendörfer et al. 1983) und Zellen des Neocortex (Schneider 1984) konnten diese Vorstellung jedoch nicht bestätigen.

Da als synchronisierendes Prinzip im Falle des Penicillins intakte synaptische Übertragung (Schwartzkroin und Prince 1978), in Calcium-freiem Medium, wo diese blockiert ist, Interaktion von elektrischen Feldern (Haas und Jefferys 1984) angenommen wird, kann die Blockierung der Synchronisation durch Valproat einheitlich nur dann erklärt werden, wenn man andere direkte Einflüsse auf die Zellmembran annimmt.

Reizbedingte 'Bursts'

Bei Zugabe von epileptogenen Substanzen wie Penicillin (Abb.6), Bicucullin (Abb.8), Pentylenetetrazol oder Strychnin (Abb.9) ins Medium wurden bei orthodromer Reizung des Stratum radiatum in der Somaschicht relativ einheitliche repetitive Entladungen evoziert. Intrazellulär erschien eine depolarisierende Welle mit mehreren Aktionspotentialen, extrazellulär eine damit eng korrelierte Anzahl von Summen-Aktionspotentialen.

In allen Fällen zeigte Valproat auf diese 'Bursts' die gleiche Wirkung: Bei einer gegebenen Reizstärke reduzierte es die Anzahl der repetitiven Entladungen. Entsprechend stieg die Reizstärke, die nötig war, um einen 'Burst' mit einer bestimmten Anzahl von Aktionspotentialen auszulösen, unter Valproat deutlich an (Abb.8).

Man kann im Sinne der Hypothese von einer verstärkten GABA-Wirkung durch Valproat (2.2.) annehmen, daß die Blockierung der repetitiven Entladungen durch eine Verstärkung der rekurrenten oder der 'feed-forward' Hemmung (oder beider zusammen) an den CA1-Pyramidenzellen (vergleiche 3.3.) zustande kommt. Ableitungen von reinen IPSPs in dieser Untersuchung zeigten jedoch nicht den geringsten Hinweis, daß diese unter Valproat tatsächlich größer werden (siehe 4.7.).

Diese Vorstellung kann außerdem nicht die gleiche Wirkung von Valproat auf Erregungssteigerung durch Strychnin (Abb.9) erklären, da die Rolle dieses Glycin-Antagonisten im Hippocampus nach dem bisherigen Stand der Literatur unbekannt ist.

Eine einheitliche Interpretation der Ergebnisse ist daher nur möglich, wenn man annimmt: Die, durch verschiedene Substanzen auf unterschiedliche Weise erzeugte, aber unabhängig davon zu repeti-

tiven Entladungen führende, erhöhte synaptische Erregung selbst wird durch Valproat reduziert. Diese Annahme erklärt auch die Blockierung der Doppelreiz-Facilitation durch Valproat (Abb.11) in normalem Medium.

Synaptische Erregung

Die Vergleiche von Zellpopulationen zeigten, daß unter Valproat die zur Auslösung eines orthodromen Aktionspotentials benötigte Reizstärke deutlich höher war (siehe 4.6.). Dieser Befund konnte in einzelnen Zellen während gleichzeitiger Applikation von Valproat (siehe 4.7.) - auch im Neocortex (Schneider 1984) - voll bestätigt werden. Gleichzeitig mit der Schwellenerhöhung wurde bei gleichbleibender Reizstärke eine starke Verkleinerung unterschwelliger EPSPs beobachtet. Bei repetitiver Aktivität war während der Valproat-Applikation eine deutliche Verkleinerung der zugrunde liegenden depolarisierenden Wellen zu sehen (Abb.8, Abb.9). Im Normalmedium wurde ein analoger Effekt, nämlich die Verkleinerung der depolarisierenden Nachpotentiale (DAPs) beobachtet (Abb.13 B). Ableitungen direkt aus der synaptischen Region (Abb.12 B) lassen vermuten, daß die Dendriten unter Valproat eine geringere Erregung zum Soma fortleiten.

Schlußfolgerung

Zusammengenommen lassen die Ergebnisse darauf schließen, daß Valproat in der CA1-Region die synaptische Erregung antagonisiert. Die Tatsache, daß bei gleichbleibender Reizstärke antidrome Summen-'Bursts' (in Calcium-freiem Medium, Abb.10 B) von Valproat weit weniger beeinflußt werden, als orthodrome Summen-'Bursts' unter epileptogenen Substanzen, deutet darauf hin, daß präsynaptische

Wirkungen auf jeden Fall beteiligt sind. Die Veränderung der spontanen "Bursts" in Barium-Medium und die Blockierung der spontanen Aktivität in Calcium-freiem Medium (bei blockierter synaptischer Übertragung, Abb.10 A) zeigen andererseits, daß auch postsynaptische Effekte vorhanden sind.

Die Ergebnisse liefern keine Unterstützung für die sog. GABA-Hypothesen (2.2.), sondern sprechen im Sinne der dritten Hypothese für eine direkte Valproat-Einwirkung auf die Membran. Es lassen sich jedoch keine Veränderungen der Ruhemembranparameter messen (siehe Tabelle 1). Dieser Effekt ist demjenigen von Lokalanästhetica sehr ähnlich, welche Entstehung und Fortleitung von Aktionspotentialen blockieren und zwar ebenfalls ohne meßbare Wirkung auf Ruhemembranparameter. Diese Ähnlichkeit wurde bereits von Fohlmeister et al. (1984) diskutiert. Perlmann und Goldstein (1984) wiesen in der Tat nach, daß Valproat eine allgemeine, bekannten Anästhetica sehr ähnliche, unspezifisch schädigende Wirkung auf Zellmembranen hat.

Unter diesem Gesichtspunkt erscheint der o.g. Zusammenhang zwischen der Konzentration und der Zeit bis zur Wirkung von Valproat ebenso plausibel, wie die uneinheitlichen und zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse der elektrophysiologischen Experimente anderer Autoren (vergleiche 2.2.). Außerdem kann ein solcher unspezifisch schädigender Membraneffekt von Valproat das ungewöhnlich breite Wirkungsspektrum des Medikaments bei der Epilepsiebehandlung (siehe 2.1.) und die, bei einigen Patienten beobachtete, Nebenwirkung des komatösen Zustandes (Degen et al. 1984) erklären.

6. LITERATUR

- Abdul-Ghani A.-S., Coutinho-Netto J., Druce D., Bradford H.F.
Effects of anticonvulsants on the in vivo and in vitro release of GABA
Biochem. Pharmacol. 30: 363-368 (1981)
- Alger B.E.
Hippocampus: Electrophysiological studies of epileptiform activity in vitro
in: R. Dingledine (Hersg.)
Brain Slices
Plenum Press, New York (1984) S.155-199
- Alger B.E., Nicoll R.A.
Feed-forward dendritic inhibition in rat hippocampal pyramidal cells studied in vitro
J. Physiology 328: 105-123 (1982)
- Alkadhi K.A., Banks F.W.
Pre- and postsynaptic actions of valproic acid at the frog neuromuscular junction
Brain Res. 306: 388-390 (1984)
- Andersen P.
Brain slices - a neurobiological tool of increasing usefulness
Trends in Neurosciences 3: 53-56 (1981)
- Andersen P., Bliss T.V.P., Skrede K.K.
Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways
Exp. Brain Res. 13: 222-238 (1971)
- Andersen P., Eccles J.C., Loyning Y.
Location of postsynaptic inhibitory synapses of hippocampal pyramids
J. Neurophysiology 27: 592-607 (1964 a)
- Andersen P., Eccles J.C., Loyning Y.
Pathway of postsynaptic inhibition in the hippocampus
J. Neurophysiology 27: 608-619 (1964 b)
- Andersen P., Sundberg S.H., Sveen O., Swann J.W., Wigström H.
Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pig
J. Physiology 302: 463-482 (1980)
- Anlezark G., Horton R.W., Meldrum B.S., Sawaya M.C.B.
Anticonvulsant action of ethanolamine-O-sulphate and di-n-propylacetate and the metabolism of gamma-aminobutyric acid (GABA) in mice with audiogenic seizures
Biochem. Pharmacol. 25: 413-417 (1976)
- Ashwood T.J., Lancaster B., Wheal H.V.
In vivo and in vitro studies on putative interneurons in the rat hippocampus: Possible mediators of feed-forward inhibition
Brain Res. 293: 279-291 (1984)

Assaf S.Y., Crunelli V., Kelly J.S.
Electrophysiology of the rat dentate gyrus in vitro
in: G.A. Kerkut, H.V. Wheal (Hersg.)
Electrophysiology of isolated mammalian CNS preparations
Academic Press, London (1981) S.257-284

Baldino F., Geller H.M.
Sodium valproate enhancement of gamma-aminobutyric acid (GABA)
inhibition: electrophysiological evidence for anticonvulsant
activity
J. Pharmac. exp. Ther. 217: 445-450 (1981)

Bernasconi R., Schmutz M., Martin P., Hauser K.
GABA Hypothesis for the mechanism of action of antiepileptic drugs:
its usefulness and limitations
in: R.G. Fariello et al. (Hersg.)
Neurotransmitters, Seizures, and Epilepsy
Raven Press, New York (1984) S.95-107

Blume H.W., Lamour Y., Arnauld E., Layton B.S., Renaud L.P.
Sodium di-n-propylacetate (valproate) action on single neurons in
rat central cortex and hippocampus
Brain Res. 171: 182-185 (1979)

Chapman A., Keane P.E., Meldrum B.S., Simiand J., Vernieres J.C.
Mechanism of anticonvulsant action of valproate
Progress in Neurobiology 19: 315-359 (1982)

O.D. Creutzfeld
Cortex cerebri
Springer, Berlin (1983)

Degen R., Degen H.E., Stürmer C.
Koma bzw. Präkoma unter Valproat-Therapie ohne laborchemisch
nachweisbare Ursache
in: O. Hallen, J.G. Meyer-Wahl, J. Braun (Hersg.)
Epilepsie 1982 Spät- und Residual-Epilepsien, Nebenwirkungen von
Anticonvulsiva
Einhorn-Press, Reinbek (1984) S.199-209

Dingledine R., Gjerstad L.
Penicillin blocks hippocampal IPSPs, unmasking prolonged EPSPs
Brain Res. 168: 205-209 (1979)

Emson P.C.
Effects of chronic treatment with amino-oxyacetic acid or sodium
n-dipropylacetate on brain GABA levels and the development and
regression of cobalt epileptic foci in rats
J. Neurochemistry 27: 1489-1494 (1976)

Fohlmeister J.F., Adelman W.J., Brennan J.J.
Excitable channel currents and gating times in the presence of
anticonvulsants ethosuximide and valproate
J. Pharmac. exp. Ther. 230: 75-81 (1984)

Fritsch G.T., Hitzig E.
Über die elektrische Erregbarkeit des Großhirns
Arch. Anat. Physiol. (Leipzig): 300-332 (1870)

- Frotscher M., Leranth C., Lübbers K., Oertel W.H.
Commissural afferents innervate glutamate decarboxylase immunoreactive non-pyramidal neurons in the guinea pig hippocampus
Neuroscience Letters 46: 137-143 (1984)
- Godin Y., Heiner L., Mark J., Mandel P.
Effects of di-n-propylacetate, an anticonvulsant compound, on GABA metabolism
J. Neurochemistry 16: 869-873 (1969)
- L.S. Goodman, A. Gilman
The pharmacological basis of therapeutics, 4.edition
Collier-Macmillan, London (1970)
- Goto M., Hasebe Y., Kato K., Kaneko T., Fukuda H.
Effects of valproic acid on spinal reflexes and H3-muscimol and H3-diazepam binding in brain membranes in rats
J. Pharmacobio-Dynamics 6: 191-195 (1983)
- Haas H.L., Jefferys J.G.R.
Low-calcium field burst discharges of CA1 pyramidal neurones in rat hippocampal slices
J. Physiology 354: 185-201 (1984)
- Hackman J.C., Grayson V., Davidoff R.A.
The presynaptic effects of valproic acid in the isolated frog spinal cord
Brain Res. 220: 269-285 (1981)
- Harrison N.L., Simmonds M.A.
Sodium valproate enhances response to GABA receptor activation only at high concentrations
Brain Res. 250: 201-204 (1982)
- Harvey P.K.P., Bradford H.F., Davison A.N.
The inhibitory effect of sodium n-dipropyl acetate on the degradative enzymes of the GABA shunt
FEBS Letters 52: 251-254 (1975)
- Hayashi T., Negishi K.
Suppression of retinal spike discharge by dipropylacetat (Depakene): a possible involvement of GABA
Brain Res. 175: 271-278 (1979)
- Hotson J.R.
Barium and penicillin: Two prototypes of epileptiform burst generation in hippocampal neurons
in: M.R. Klee et al. (Hersg.)
Physiology and pharmacology of epileptogenic phenomena
Raven Press, New York (1982) S.113-121
- Hotson J.R., Prince D.A.
Penicillin- and barium-induced epileptiform bursting in hippocampal neurons: Actions on Ca^{++} and K^{+} potentials
Annals of Neurology 10: 11-17 (1981)
- Hyden H., Cupello A., Palm A.
Inhibition by sodium valproate of the transport of GABA through the Deiters' neurone plasma membrane
Neuropharmacology 23: 319-321 (1984)

Jefferys J.G.R., Haas H.L.

Synchronized bursting of CA1 hippocampal pyramidal cells in the absence of synaptic transmission
Nature 300: 448-450 (1982)

Johnston D.

Valproic acid: Update on its mechanism of action
Epilepsia 25 suppl.1: S1-S4 (1984)

Kerwin R.W., Olpe H.-R.

The effect of sodium valproate on single unit activity in the rat brain
British J. Pharmacology 70: 71P (1980)

Kerwin R.W., Olpe H.-R., Schmutz M.

The effect of sodium-n-dipropyl acetate on gamma-aminobutyric acid-dependent inhibition in the rat cortex and substantia nigra in relation to its anticonvulsant activity
British J. Pharmacology 71: 545-551 (1980)

Kerwin R.W., Taberner P.V.

The mechanism of action of sodium valproate
Gen. Pharmacol. 12: 71-75 (1981)

Klee M.R., Akaike N., Oomura Y., Maruyama T.

Valproate reduces Na⁺-dependent GABA-uptake
Pflügers Archiv - Europ. J. of Physiology 405 suppl.2: R47 (1985)

M.R. Klee, H.D. Lux, E.-J. Speckmann (Hersg.)

Physiology and pharmacology of epileptogenic phenomena
Raven Press, New York (1982)

Kupferberg H.J.

Sodium Valproate
in: Glaser et al. (Hersg.)
Antiepileptic drugs: mechanisms of action
Raven Press, New York (1980) S.643-654

Lorente de No R.

Studies on the structure of the cerebral cortex
II. Continuation of the study of the Ammonic system
J.Psychol. Neurol. (Leipzig) 46: 113-177 (1943)

Löscher W.

Zum Wirkungsmechanismus der Antiepileptica
Nervenarzt 52: 61-67 (1981)

Löscher W., Frey H.-H.

Zum Wirkungsmechanismus von Valproinsäure
Arzneimittelforschung/Drug Research 27: 1081-1082 (1977)

Lynch G., Schubert P.

The use of in vitro brain slices for multidisciplinary studies of synaptic function
Annual Reviews in Neurosciences 3: 1-23 (1980)

MacDonald R.L., Bergey G.K.

Valproic acid augments GABA-mediated postsynaptic inhibition in cultured mammalian neurons
Brain Res. 170: 558-562 (1979)

Mares P., Maresova D., Pohl M., Koryntova H., Seidl J. Velisek L.
Effect of anticonvulsant drugs on thalamo-cortical and hippocampo-
cortical self-sustained after-discharges in the rat
Physiologia Bohemoslovaca 33: 179-187 (1984)
Therapie 18: 435-438 (1963)

Mesdjian E., De Feudis F.V., Valli M., Jadot G., Mandel P.
Antinociceptive action of sodium valproate in the mouse
Gen. Pharmacol. 14: 697-699 (1983)

Meunier H., Carraz G., Meunier Y., Eymard P., Aimard M.
Proprietes pharmacodynamiques de l'acide n-dipropylacetique

Mosfeldt Laursen A.
The contribution of in vitro studies to the understanding of
epilepsy
Acta Neurologica Scandinavica 69: 367-375 (1984)

Nosek T.M.
How valproate and phenytoin affect the ionic conductances and
active transport characteristics of the crayfish giant axon
Epilepsia 22: 651-665 (1981)

Perlman B.J., Goldstein D.B.
Membrane-disordering potency and anticonvulsant action of valproic
acid and other short-chain fatty acids
Molecular Pharmacology 26: 83-89 (1984)

Pinder R.M., Brogden R.N., Speight T.M. Avery G.S.
Sodium Valproate: A review of its pharmacological properties and
therapeutic efficacy in epilepsy
Drugs 13: 81-123 (1977)

Preisendörfer U., Klee M.R., Heymann L.
Enhancement of IPSPs in hippocampal neurons in vitro by valproate
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 325 suppl.: R 78 (1984)

Ramon y Cajal S.
Histologie du systeme nerveux de l'homme et des Vertebres Vol.2
Maloine, Paris (1911) 993 pp

Ribak C.E., Vaughn J.E., Saito K.
Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in
neuronal somata following colchicine inhibition of axonal transport
Brain Res. 140: 315-332 (1978)

Richards C.D., Sercombe R.
Calcium, magnesium and the electrical activity of guinea-pig
olfactory cortex in vitro
J. Physiology 211: 571-581 (1970)

Rose D.
Facilitation of bicuculline- and picrotoxin-induced seizures by
sodium valproate in rats
Arch. intern. de Pharmacodynamique et de Therapie 239: 78-85 (1979)

Sawaya M.C.B., Horton R.W., Medrum B.S.
Effects of anticonvulsant drugs on the cerebral enzymes metabolizing
GABA
Epilepsia 16: 649-655 (1975)

Schmutz M., Olpe H.-R., Koella W.P.
Central actions of valproate sodium
J. Pharm. Pharmacol. 31: 413-414 (1979)

Schneider K.
Intrazelluläre Ableitungen von isolierten Dünnschnitten des
Neocortex der Ratte
Diplomarbeit, Universität Erlangen (1984)

Schneiderman J.H., Schwartzkroin P.A.
Effects of phenytoin on normal activity and on penicillin-induced
bursting in the guinea pig hippocampal slice
Neurology 32: 730-738 (1982)

Schwartzkroin P.A.
Characteristics of CA1 neurons recorded intracellularly in the
hippocampal in vitro slice preparation
Brain Res. 85: 423-436 (1975)

Schwartzkroin P.A.
Further characteristics of hippocampal CA1 cells in vitro
Brain Res. 128: 53-68 (1977)

Schwartzkroin P.A., Prince D.A.
Penicillin-induced epileptiform activity in the hippocampal in vitro
slice
Annals of Neurology 1: 463-469 (1977)

Schwartzkroin P.A., Prince D.A.
Cellular and field potential properties of epileptogenic hippocampal
slice
Brain Res. 147: 117-130 (1978)

Schwartzkroin P.A., Prince D.A.
Changes in excitatory and inhibitory synaptic potentials leading to
epileptogenic activity
Brain Res. 183: 61-76 (1980)

Simler S., Ciesielski L., Maitre M., Randriianarisoa H., Mandel P.
Effect of sodium-n-dipropylacetat on audiogenic seizures and brain
gamma-aminobutyric acid levels
Biochem. Pharmacol. 22: 1701-1708 (1973)

Skrede K.K., Westgaard R.H.
The transverse hippocampal slice - a well-defined cortical structure
maintained in vitro
Brain Res. 35: 589-593 (1971)

Slater G.E., Johnston G.D.
Sodium valproate increases potassium conductance in alypsia neurons
Epilepsia 19: 379-384 (1978)

Spencer H.J., Gribkoff V.K., Cotman C.W., Lynch G.S.
GDEE antagonism of iontophoretic amino acid excitations in the
intact hippocampus and in the hippocampal slice preparation
Brain Res. 105: 471-481 (1976)

Teyler T.J.
Brain slice preparation: hippocampus
Brain Res. Bulletin 5: 391-403 (1980)

Taylor C.P., Dudek F.E.
Synchronous neural afterdischarges in rat hippocampal slices without
active chemical synapses
Science 218: 810-812 (1982)

Van der Laan J.W., De Boer T.H., Bruinvels J.
Di-n-propylacetate and GABA degradation. Preferential inhibition of
succinic semialdehyd dehydrogenase and indirect inhibition of
GABA-transaminase
J. Neurochemistry 32: 1769-1780 (1979)

Vieth J.
Diagnostik und Behandlung zerebraler Anfallsleiden
Therapiewoche 29: 5576-5590 (1979)

R.A. Voskuyl
Experimental Epilepsy
Dissertation, Universität Leiden (1978)

Voskuyl R.A., Ter Keurs H.E.D.J., Meinardi H.
Actions and interactions of dipropylacetate and penicillin on evoked
potentials of excised prepiriform cortex of guinea pig
Epilepsia 16: 583-592 (1975)

Vossius G.
Grundlagen der biologischen Kybernetik
in: Gauer O.H. et al. (Hersg.)
Allgemeine Neurophysiologie, Physiologie des Menschen Band 10
München (1980) S.211-240

Wong R.K.S., Traub R.D., Miles R.
Epileptogenic mechanisms as revealed by studies of the hippocampal
slice
in: P.A. Schwartzkroin, H.V. Wheal (Hersg.)
Electrophysiology of epilepsy
London (1984) S.253-275

Woodbury D.M.
Experimental models of status epilepticus and mechanisms of drug
action
in: A.V. Delgado-Escueta et al. (Hersg.)
Advances in Neurology, Vol. 34: Status Epilepticus
Raven Press, New York (1983) S.149-160

Yamamoto C.
Intracellular study of seizure-like afterdischarges elicited in thin
hippocampal sections in vitro
Exp. Neurology 35: 154-164 (1972)

An dieser Stelle gilt mein ganz herzlicher Dank

Herrn Prof. Dr.med. J.Vieth, Leiter der Abt.f.exp.Neuropsychiatrie der Neurologischen Klinik der Universität Erlangen, der das Thema vorgeschlagen und mir alle Einrichtungen und Möglichkeiten seiner Abteilung in überaus großzügiger Weise zur Verfügung gestellt hat.

Herrn Prof. Dr.phil.nat. G. Seitz, Leiter der Abt.Sinnesphysiologie des Instituts f. Zoologie II der Universität Erlangen, der sich freundlicherweise bereit erklärt hat, die Betreuung der Arbeit von Seiten der Naturwissenschaftlichen Fakultäten zu übernehmen.

Herrn Prof. Dr. Speckmann, Herrn Prof. Dr. Bingmann und Herrn Dr. Walden vom Physiologischen Institut der Universität Münster für wertvolle Anregungen.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN :

Lothar Hoja

geb. 29. Mai 1956 in Nürnberg

Eltern:

Willi Paul Hoja, Diplom-Kaufmann

Dr.rer.pol. Anna Maria Hoja, geb. Heck, Studiendirektorin i.R.

Konfession: röm.-katholisch

verheiratet

BILDUNGSWEG :

September 1962 bis Juli 1966 Grundschule Holzgartenstraße Nürnberg

September 1966 bis Mai 1975 Neues Gymnasium Nürnberg

Mai 1975 Abitur

Juli 1975 bis September 1976 Grundwehrdienst bei 2.Kp/Fernmeldebataillon 210, Dillingen/Donau

November 1976 bis Oktober 1981 Studium der Biologie
an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

November 1981 mündlicher Teil der Diplom-Hauptprüfung

Dezember 1981 bis Dezember 1982 Anfertigung der Diplomarbeit
mit dem Thema:

'Elektrophysiologische Ableitungen von isolierten Dünnschnitten
des Hippocampus der Ratte'

in der Abteilung für experimentelle Neuropsychiatrie
(Leiter Prof.Dr.med.J.Vieth) in der Neurologischen Klinik
der Universität Erlangen

seit Februar 1983 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der
Abteilung f. exp. Neuropsychiatrie

